

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ**

**Corelații între indicatorii balanței energetice și funcția
reproductivă la populația feminină tânără**

-REZUMATUL TEZEI-

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC
Prof. Dr. Simona Fica**

**DOCTORAND
Dr. Mihaela Poterașu**

2020

CUPRINSUL REZUMATULUI:

I.	INTRODUCERE	3
	I.1 Ipoteza de cercetare și obiectivele științifice ale tezei.....	3
	I.2 Structurarea tezei.....	4
II.	CONTRIBUȚIA ORIGINALĂ	4
	II.1 Metodologie generală	4
	II.2 Caracterizarea generală a lotului de pacienți	6
	II.3 Studiul 1. „Comparație între parametrii metabolici și compoziția corporală la femeile tinere cu anorexie nervoasă și subponderalitate constituțională”.....	7
	II.4 Studiul 2. „Impactul funcției reproductive la nivel osos”.....	10
	II.5 Studiul 3. „Relația dintre nivelul seric al kisspeptinei, ciclul menstrual și parametrii biologici ai funcției reproductive la pacientele tinere normo și subponderale”.....	15
	II.6 Studiul 4. „Explorarea rolului kisspeptinei în reglarea metabolică la pacientele normo și subponderale”.....	18
	II.7 Concluzii și contribuții personale	21
III.	BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	24

I. INTRODUCERE

Impactul balanței energetice pe funcția reproductivă este vast și în formă de U (1), în sensul că atât o balanță energetică negativă, cât și una pozitivă au un efect detrimental la nivelul axei hipotalamo-hipofizo-ovariene. Chiar dacă până acum nu s-a găsit un prag al nivelului disponibil de energie sub care să apară disfuncțiile menstruale (2), hormonii sexuali intervin în egală măsură în balanța energetică, influențând aportul caloric și consumul energetic (3). Astfel, se creează o interdependență a celor două, pe care am ales să o investigăm în lucrarea de față, studiind aspectele reproductive și metabolice la femeile tinere cu potențial reproductiv, normo și subponderale. De asemenea, în proiectul prezentat am introdus un al treilea factor, caracterizat nu numai de particularități reproductive și metabolice, dar și de o importantă latură psihiatrică: tulburarea de comportament alimentar de tipul AN.

I.1. Ipoteza de cercetare și obiectivele științifice ale tezei:

Tema acestei cercetări s-a născut din dorința de a înțelege mai bine mecanismele care diferențiază pacientele subponderale din punct de vedere reproductiv. Am cercetat markerii endocrinologici și metabolici ai reproducerii la două populații de paciente tinere și subponderale: pacientele cu diagnostic de AN și tinerele cu subponderalitate constituțională (SC), cu focus în special pe rolul kisspeptinei. Prin urmare, am căutat să adăugăm informație la literatura științifică de specialitate care vizează îndeosebi explorarea impactului pe care acest neuropeptid, alături de alți factori metabolici, îl joacă în crearea profilului reproducător al tinerelor paciente subponderale.

Cercetarea s-a întins pe mai multe direcții, care s-au concretizat în următoarele 4 studii:

- studiul 1 a avut ca obiectiv căutarea unor parametri metabolici folosiți în practica curentă, care să diferențieze anorexia nervoasă de subponderalitatea constituțională;

- studiul 2 a investigat impactul greutateii, al hormonilor sexuali și al altor parametri clinico-biologici la nivelul metabolismului osos la pacientele cu anorexie nervoasă și la cele slabe constituțional;

- studiul 3 a căutat să caracterizeze rolul kisspeptinei în reglarea funcției reproductive la pacientele tinere normo și subponderale;

- studiul 4 a explorat implicațiile kisspeptinei în reglarea metabolică la tinerele paciente normo și subponderale.

I.2. Structurarea tezei

Teza în ansamblul ei este structurată în două mari părți: partea generală și partea specială. Partea generală a lucrării reprezintă 1/3 din întreaga teză și cuprinde aproximativ 50 de pagini, structurate în patru subcapitole în care sunt prezentate în extenso informațiile la zi care au creat contextul științific din care a luat naștere tema acestui proiect. Astfel, subcapitolul 1 prezintă premisele reproducerii la femei și cuprinde informații despre fiziologia foliculogenezei, controlul hormonal și tulburările ciclului menstrual cu accent pe disfuncția ovulatorie și amenoreea hipotalamică funcțională, precum și date epidemiologice și etiologice ale infertilității de cauză feminină. Subcapitolul 2 aduce în discuție determinanții balanței energetice și modul în care aceasta impactează outcome-ul reproductiv, prezentând rolul celor mai importanți factori biologici care se află la puntea dintre cele două. Partea generală continuă cu informații despre AN, prezentând algoritmul său diagnostic, date epidemiologice și aspecte ale morbidității, punând accent pe complicațiile endocrinologice, aspectele reproductive și modul în care sănătatea osoasă a acestor paciente este afectată și se încheie cu subcapitolul 4, în care sunt sintetizate datele științifice disponibile astăzi despre SC.

Partea specială a lucrării reprezintă peste 2/3 din întreaga teză și însumează contribuția originală și rezultatele activității de cercetare. Ea debutează cu prezentarea pe larg a metodologiei de cercetare, continuând cu caracterizarea populației de studiu și cu prezentarea rezultatelor în 4 studii, pe care le vom sintetiza în cele ce urmează. Partea specială se încheie cu un subcapitol dedicat concluziilor și direcțiilor de activitate viitoare. Teza în ansamblul ei cuprinde aproximativ 250 de titluri bibliografice actuale și relevante în raport cu tema aleasă și aproximativ 200 de pagini care includ și lista de publicații din lucrarea prezentată.

II. CONTRIBUȚIA ORIGINALĂ

II.1. Metodologie generală

Rezultatele ce urmează a fi prezentate au fost obținute prin prelucrarea datelor anamnestice, clinice, biologice și imagistice obținute de la 38 de paciente normo și subponderale, cu și fără tulburare de comportament alimentar, cu vârsta cuprinsă între 11 și 37 de ani ce au fost evaluate în cadrul proiectului de doctorat în perioada 01.10.2017 și 31.07.2020. Studiul a avut un caracter transversal, evaluarea biologică s-a efectuat a jeun, exclusiv în zilele 2-5 ale ciclului menstrual în cazul pacientelor menstruate. Studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Spitalului Elias precum și de Comisia de Etică a Cercetării

Științifice a Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București, în cadrul căreia acesta s-a desfășurat și a fost implementat și desfășurat în acord cu declarația de la Helsinki. Toți subiecții cu vârsta de peste 18 ani au semnat un consimțământ informat la aderare, iar în cazul subiecților minori, consimțământul informat a fost adaptat și semnat de către unul dintre părinți sau reprezentanți legali.

Toți pacienții au fost evaluați conform unui plan de investigații standard la care s-au adăugat investigații particulare, în funcție de caz. Evaluarea standard a cuprins:

-anamneza, care a pus un accent deosebit a fost pus pe istoricul menstrual, istoricul de tulburare de comportament alimentar, chestionarul alimentar și antecedentele heredo-colaterale și personale patologice.

-examenul clinic, în care am notat în special datele antropometrice (înălțime (H), greutate (G), circumferința abdominală (CA), circumferința șoldului (CS), IMC și scorul z al IMC, rapoartele CA/CS, CA/H), dar și stadiul Tanner al dezvoltării pubertare și constantele clinice ale evaluării standard pe aparate și sisteme.

-date de laborator care au cuprins hemograma, ionograma și analizele biochimice uzuale, precum și o serie de investigații hormonale: *kisspeptina (kiss-1)*, *TSH*, *fT4*, *triiodotironina totală (TT3)* și *anticorpii anti-tireoperoxidaza totală (ATPO)*, *FSH*, *LH*, *estradiol (E2)*, *testosteronul seric*, *PTH*, *25-OH-vitamina D*, *IGF-1* și *scorul z al IGF-1*, *insulina serică*:

-date imagistice ce au cuprins absorbtimetria duală cu raze X (DXA) ce a fost efectuată atât pentru aprecierea densității minerale osoase (DMO) de la nivel lombar și a întregului corp. Scanarea întregului corp a folosit și pentru aprecierea compoziției corporale.

Diagnosticul de AN a fost stabilit în conformitate cu algoritmul elaborat de cea de-a 5a ediție a Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5), respectiv prezența unei greutăți scăzute, a unei mispercepții a imaginii corporale și a fobiei față de mâncare. Conform aceluiași manual, am definit ca AN atipică, formele de AN care întrunesc toate condițiile de diagnostic, mai puțin greutatea scăzută (4).

Am definit statutul de SC drept orice pacient sănătos, fără tulburare de comportament alimentar și respectiv fără să întrunească criteriile de diagnostic ale AN definite de DSM-5, cu analize în parametri normali și care prezentau un IMC sub 18.5kg/m² pentru cei cu vârsta peste 20 de ani, respectiv aveau un IMC sub percentila 5 pentru vârstă și sex și un scor z al IMC sub -2DS pentru populația pediatrică.

Scorul z al IMC a fost calculat și pentru pacientele adulte luându-se în calcul în cazul acestora deviația standard a IMC corespunzătoare vârstei de 20 de ani.

II.2. Caracterizarea generală a lotului de pacienți

În cadrul acestui proiect am evaluat 38 de paciente cu vârsta între 11.3 și 36.7 de ani, normo sau subponderale. Astfel, am stabilit drept cut-off pentru greutate o valoare a scorului z al IMC de $-2DS$, corespunzătoare unui IMC pentru vârsta de 20 de ani de aproximativ $17\text{kg}/\text{m}^2$ și în funcție de acesta, am împărțit pacientele evaluate în două mari categorii: paciente cu normoponderalitate și paciente cu subponderalitate. Am ales acest cut-off ca urmare a unei revizii a literaturii în urma căreia a rezultat că mai mulți autori s-au referit la subponderalitate ca începând de la un IMC situat la mai mult de $-2DS$ față de media populațională (5). Având în vedere caracterul mixt al lotului de paciente studiate, format atât din paciente pediatrice, cât și din adulte, am căutat să standardizăm greutatea relativă raportându-ne în primul rând la scorul z al acesteia, exprimat în DS (6).

Jumătate din pacientele din întreaga cohortă prezentau diagnostic de AN, cu o durată medie de evoluție de aproximativ 4.5 ani. Având în vedere că actual algoritmul de diagnostic al AN, definit de DSM-5, este lipsit de o definiție operațională a acestei afecțiuni (4), heterogenitatea lotului de AN a fost relativ mare și a inclus atât paciente cu AN tipică (58.8%), cât și paciente cu AN forma atipică (cu greutate normală, 20.6%) și paciente cu AN în tratament psihiatric și greutate astfel normalizată (20.6%). De asemenea, lotul de AN a cuprins paciente aflate în faza acută a diagnosticului, cât și paciente cu AN și remitere parțială, acestea din urmă angajându-se în continuare în comportamente de deprivare alimentară, dar nemaiasociind o percepție a imaginii corporale atât de eronată ca a pacientelor aflate în faza acută a bolii. Deși aparent pare să existe o heterogenitate a lotului de AN, într-o metanaliză care a inclus peste 100 de studii, s-a observat că evoluția AN este foarte variată: cel mult o jumătate din paciente se recuperează total, 30% rămân cu forme ușoare și 20% se transformă în forme cronice (7). Această mare variabilitate vine probabil și din modul în care se definește rezoluția bolii-recuperarea fizică, limitată strict la greutate și considerată atinsă atunci când greutatea ajunge la minim 85% din greutatea ideală apare la aproape un an de la diagnosticarea bolii, dar modificările psihologice se mențin o perioadă mai mult decât dublă (8). În concluzie, pare că AN este o tulburare de comportament alimentar care, în cele mai multe cazuri, nu dispăre în totalitate niciodată, cu excepția manifestărilor acute, amenințătoare de viață, care se remit în până la 2 ani de la diagnostic.

În ceea ce privește istoricul menstrual al pacientelor evaluate, aproximativ trei sferturi din pacientele cu AN prezentau amenoree secundară în momentul evaluării. După cum se observă, procentul pacientelor cu amenoree secundară este distinct de 100%, cum ar fi fost urmărind criteriile de diagnostic ale DSM-IV, care nu mai este în vigoare, înlăturarea

obligativității criteriului de amenoree fiind printre cele mai importante schimbări aduse de noua definiția cuprinsă de DSM-5, publicat în 2013. Se estimează că această relaxare a criteriilor de diagnostic, deși derutantă pe alocuri, a crescut cu până la 60% prevalența AN în populația generală, rămânând totuși încă subdiagnosticată (9).

O diferență surprinzătoare a pacientelor noastre cu AN a fost aceea că acestea au prezentat o vârstă mai mică la menarhă față de pacientele fără acest diagnostic. Majoritatea datelor din literatură converg către o idee opusă, conform căreia este mai frecvent ca pacientele cu AN să aibă menarha întârziată din cauza pubertății întârziate sau oprite din evoluție în cazul în care debutul bolii este înainte ca ele să experimenteze prima menstră (10). Totuși, atât în studiul nostru, cât și într-un alt studiu foarte recent, vârsta la menarhă a pacientelor cu AN a fost mai mică decât a pacientelor control sau cu SC (11), ceea ce ridică suspiciunea dacă activarea mai timpurie a puls-generatorului de GnRH la aceste paciente nu este o dovadă a implicării etiopatogenice a kiss-1 în generarea tulburării de comportament alimentar.

În cele din urmă, pe baza aprecierii personale și a numărului de calorii declarat de fiecare pacientă care a putut estima un total al kaloriilor ingerate zilnic, pacientele cu AN au un aport caloric semnificativ mai mic decât pacientele din lotul control. Desigur, chiar dacă acest rezultat nu este surprinzător, el trebuie interpretat cu atenție, având în vedere că ancheta alimentară efectuată a avut un caracter retrospectiv, bazat exclusiv pe aprecierile și declarațiile pacientelor. În cadrul aceleiași anchete alimentare, nu am mai evidențiat alte diferențe semnificative între aportul zilnic de macronutrienți.

II.3 Studiul 1. Comparație între parametrii metabolici și compoziția corporală la femeile tinere cu anorexie nervoasă și subponderalitate constituțională.

Obiectivul acestui studiu a fost să compare două grupuri de femei tinere reprezentative atât pentru AN, cât și pentru SC, din punct de vedere antropometric, metabolic și al compoziției corporale, în căutarea unor parametri discriminativi între cele două, în era DSM-5.

Selectarea pacientelor pentru studiu

Pentru acest studiu am selectat pacienții evaluați între octombrie 2017 și ianuarie 2020 în cadrul proiectului de doctorat și am inclus inițial 27 de pacienți de sex feminin cu vârstă între 11 și 37 de ani, care ne-au fost adresate pentru malnutriție, AN sau managementul subponderalității. Cohorta de studiu a fost împărțită în două, rezultând 15 pacienți care sufereau de AN și 12 pacienți SC. În cohorta de pacienți cu AN, 3 subiecți erau recuperați din punctul de vedere al greutateii în urma tratamentului psihiatric pe care îl urmau, iar o pacientă prezenta

AN forma atipică, cu un IMC > 18.5 kg/m². Acești pacienți au fost excluși din analiză pentru evitarea potențialelor bias-uri. Toți ceilalți subiecți rămași în studiu aveau fie AN tipul restrictiv forma activă, fie un diagnostic de AN tipul restrictiv în antecedente, fără remisie completă în prezent- fie prin continuarea deprinderii alimentare, fie prin greutate mică sau prin persistența unei percepții eronate a imaginii corporale. Am utilizat pentru acest studiu, rezultatele investigațiilor clinice, biologice și ale compoziției corporale rezultate în urma scanării DXA.

Principalele rezultate

Rezultatele parametrilor antropometrici sunt prezentate în tabelul II.3.1, iar ale celor biologici în tabelul II.3.2.

Tabelul II.3.1. Caracteristicile antropometrice ale AN și SC

	AN* n=11	SC n=12	Valoarea p**
Vârsta (ani)	22.1±7 Mediana=23.1ani	26±7.5 Mediana=28.3 ani	NS
IMC (kg/m²)	15.1±1.7	16.8±1.2	p<0.05
Scorul z al IMC (DS)	-3.3±1.5	-2.1±0.7	p<0.05
Circumferința abdominală (cm)	60.1±3.7	62.7±2.6	p=0.06
Circumferința șoldului (cm)	86±6.7	88.4.3	p<0.05

Tabelul II.3.2. Parametrii biochimici la subiecții cu AN și SC

	AN* n=10	SC n=12	Valoarea p***
Cho (mg/dl)*	193.4±43	163±34	p=0.08
LDL (mg/dl)*	116.4±36	91.2±27	p=0.07
HDL (mg/dl)*	63.6±11.9	61.5±13.6	NS
Tg (mg/dl)*	66.9±30	49±11	p=0.08
TSH (μIU/ml)*	1.6±0.8	2.2±0.8	p<0.05
fT4 (ng/dl)*	0.94±0.1	1.07±0.1	p<0.05
IGF1 (ng/ml)*	105±11	217±59	p<0.05
Scorul Z al IGF-1**	3.75	10.83	P<0.05
Insulina (μIU/m)*	3.8±2.2	15.5±1.4	p<0.05
HOMA-IR*	0.8±0.5	1.17±0.3	p<0.05

*valorile sunt exprimate ca medii ± DS. **valoare exprimată ca medie a rangului ***pragul semnificației statistice s-a considerat p<0.05.

Legendă: AN- anorexie nervoasă, SC- slab constituțional, NS- nesemnificativ statistic

În ceea ce privește analiza compoziției corporale, grupul de AN a diferit de grupul de

SC cu privire la nivelul PTG (22.8 ± 4 versus 26.7 ± 4.6 , $p < 0.05$). Testele efectuate pentru determinarea corelației dintre homeostazia metabolismului glucidic, evaluată prin indicele HOMA-IR și parametrii compoziției corporale, reprezentată de masa grasă totală, PTG și RMRp, au găsit o asociere pozitivă puternică în grupul cu AN între HOMA-IR și procentul total de grăsime ($r=0.7$, $p=0.03$). Niciuna dintre celelalte corelații testate nu au atins pragul semnificației statistice.

Interpretarea rezultatelor

În urma analizei statistice s-a dovedit că pacientele evaluate au avut vârste similare, dar că pacientele cu AN au prezentat un IMC și o greutate la evaluare semnificativ mai scăzute. Un rezultat important al studiului în discuție a fost acela că pacientele cu AN au tendința către un profil lipidic mai alterat, în ciuda procentului mai mic de grăsime corporală al acestor paciente. Probabil din cauza numărului mic de pacienți evaluați, rezultatele noastre au fost doar la pragul semnificației statistice, dar având în vedere că date similare au mai fost publicate și în alte studii (12), merită o atenție specială. Până în ziua de astăzi, nu se cunoaște o explicație certă a acestui fenomen, în condițiile în care aportul de grăsimi, așa cum am specificat deja, este mai mic la pacientele cu AN, dar posibile ipoteze etiologice constă în procentul crescut de deshidratare al acestor paciente, în alterarea microbiotei, disfuncțiile hormonale și altele (12–14).

În ceea ce privește dezechilibrele hormonale, și în studiul nostru am găsit la pacientele cu AN versus SC un nivel mai scăzut al hormonilor tiroidieni, care au conturat tabloul unui sindrom de tiroidă bolnavă (euthyroid sick syndrome). Acest lucru definește doar AN, care reprezintă o stare patologică ce necesită încetinirea metabolismului și conservarea energiei (15), nu și SC la care nivelele de hormoni tiroidieni au fost semnificativi mai mari. De altfel, scăderea fT3 este atât de pregnantă în formele acute și caracteristică AN, încât un cercetător în domeniu a și propus folosirea acestuia împreună cu leptina în diagnosticul diferențial al AN față de SC (16).

În aceeași idee de homeostazie energetică, am găsit la pacientele cu AN din studiu și un nivel semnificativ mai mic de IGF-1, iar datele sunt asemănătoare cu cele publicate în literatura de specialitate anterior. Nu am dispus de nivelul GH al pacientelor noastre, dar ar fi fost de așteptat ca pacientele cu AN să aibă un nivel crescut al GH și o valoare scăzută a IGF-1, așa cum s-a dovedit în urma analizei statistice, iar această dinamică este necesară pentru păstrarea euglicemiei (17).

În cele din urmă, în acest studiu am arătat că pacientele cu AN au avut un nivel mai scăzut de PTG și, de asemenea, o valoare mai scăzută a indicelui HOMA-IR, sugerând o stare de insulino-sensibilitate la aceste paciente, trăsătură metabolică ce a fost descrisă și anterior (18). Mai mult, am găsit la pacientele cu AN o corelație pozitivă între HOMA-IR și PTG, asociere care a fost găsită și de alți cercetători și de la care a plecat o speculație în literatură în ceea ce privește rolul pe care insulina îl are în influențarea circuitului de recompensă prin intermediul receptorilor centrali de la nivelul neuronilor de dopamină (19).

În sfârșit, cu ocazia acestui studiu am găsit un nivel mai mare al proteinelor serice la pacientele cu AN, care poate fi explicat prin aportul adesea nedeclarat de suplimente alimentare pe care aceste paciente și le autoadministrează.

II.4. Studiul 2. Impactul funcției reproductive la nivel osos.

Obiectivul acestui studiu a fost să evalueze frecvența și severitatea afectării osoase și să caute factori predictivi ai anomaliilor de mineralizare osoasă la pacientele tinere cu AN și cu SC.

Selectarea pacientelor pentru studiu

Pentru scopul propus, am considerat pentru studiu cele 37 de paciente la care am dispus de evaluare DXA și am analizat parametrii densitometrici ai compoziției și microarhitecturii osoase, precum și cei biologici. Astfel, lotul de studiu a fost format din 18 paciente cu AN, iar lotul control din 19 paciente normo sau subponderale, fără acest diagnostic. Nicio pacientă nu prezenta diagnostic sau punct de apel clinic pentru fractură de fragilitate. În lotul cu AN, toate pacientele erau post-menarhale, nicio pacientă nu urma tratament de substituție estro-progestativă. Din cele 19 paciente evaluate în lotul control, 2 paciente, în vârstă de 14.5 și 15.1 ani erau premenarhale, iar o pacientă, în vârstă de 16.2 ani prezenta oligomenoree. Toate celelalte paciente evaluate aveau menstră lunară.

Principalele rezultate

Datele antropometrice ale pacientelor cu AN sunt prezentate în tabelul II.4.1, iar ale celor din lotul control în tabelul II.4.2.

Tabelul II.4.1 Datele antropometrice ale pacientelor cu anorexie nervoasă

	Media	Deviația standard	Extremele	Mediana
Vârsta la momentul investigației	21.3 ani	6.2	13.7-36.5 ani	21.3 ani

Vârsta la debutul AN	16.8 ani	3.9	13-25 ani	15.5 ani
Durata de evoluție a AN	52.8 luni	54.2	8-216 luni	27.5 luni
Greutatea la momentul investigației	46.4 kg	6.6	32-61.6 kg	46.4 kg
IMC la momentul investigației	16.8 kg/m ²	2.3	12.6-21.1 kg/m ²	16.8 kg/m ²
Scorul z al IMC la momentul investigației	-2.3 DS	1.9	-6.2-0.3 DS	-2 DS
Greutatea minimă istorică	39.8 kg	7	30-61.6 kg	40 kg
Vârsta la nadirul greutateii	18.9 ani	5	13.3-30 ani	17.2 ani
Durata de evoluție dintre nadirul greutateii și greutatea actuală	27.9 luni	36.5	0-110 luni	10.7 luni
Consumul declarat de kcal/zi (N=14)	990kcal	518	400-2000kcal	1100kcal

Tabelul II.4.2. Caracteristicile antropometrice ale pacienților din lotul control

	Media	Deviația standard	Extremele	Mediana
Vârsta la momentul investigației	25.5 ani	6.5	14.5-36.7 ani	26 ani
Greutatea la momentul investigației	49 kg	6.2	33.6-62 kg	48.8 kg
IMC la momentul investigației	17.9 kg/m ²	2.2	14.9-22.5 kg/m ²	17.75 kg/m ²
Scorul z al IMC la momentul investigației	-1.6 DS	1.1	-3.99-0.7 DS	-1.7 DS
Consumul declarat de kcal/zi	1500 kcal	344	1000-2000 kcal	1500 kcal

În lotul cu AN, testul Fisher exact a arătat o asocierie puternică între prezența tulburării de comportament alimentar și istoricul de amenoree secundară ($\phi=0.89$, $p<0.001$).

În ceea ce privește măsurătorile DMO, în lotul pacienților cu AN, valoare absolută medie a DMO lombar a fost de 1.024 ± 0.116 g/cm², iar valoarea medie scorului Z lombar de -1.1 ± 0.9 DS, iar în lotul control, s-a înregistrat o valoare medie a DMO lombar de 1.155 ± 0.109 g/cm², iar a scorului Z de -0.2 ± 0.7 DS. În ceea ce privește DMO a întregului corp, valoarea medie a acestuia a fost de 0.992 ± 0.08 g/cm² în lotul AN și de 1.060 ± 0.126 g/cm² în lotul control. Scorul Z al întregului corp a fost de -0.5 ± 1 DS în lotul de AN și de 0 ± 1.1 DS în lotul control. În continuare, am măsurat valoarea TBS, care a fost de 1.36 în lotul AN și de 1.45 la

pacientele fără AN. Toate aceste variabile au prezentat distribuție gaussiană, așa încât am efectuat testul t-student pentru a compara mediile dintre cele două grupuri, iar rezultatele au fost semnificative statistic în ceea ce privește DMO lombar și scorul Z al DMO lombar, precum și TBS.

De asemenea, singurele valori ale scorului Z al DMO situate sub -2DS, care încadrează pacientele în categoria de „DMO inadecvată vârstei și sexului” au fost în grupul de AN cu greutate mică (figura II.4.1), iar scorul Z a avut cele mai mari valori la pacientele normoponderale, diferența nefiind semnificativă statistic (fig. II.4.2).

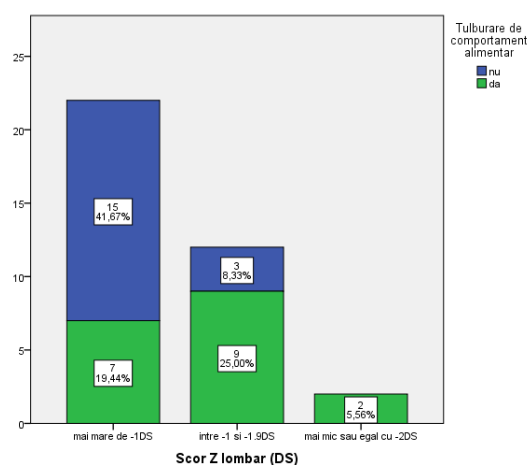


Figura II.4.1. Repartizarea pacienților în funcție de scorul Z al DMO lombar

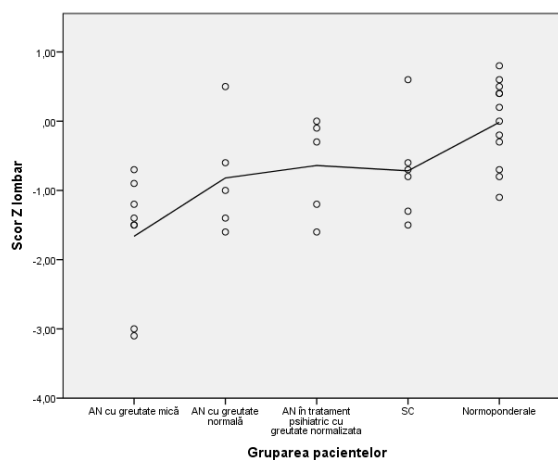


Figura II.4.2. Repartizarea scorului Z lombar în funcție de categoria patologică (p=0.09)

În tabelul II.4.4 am sintetizat principalele rezultate biologice luate în calcul în analiza statistică a acestui studiu.

Tabelul II.4.4. Parametrii biologici la populația studiată

	AN	Lot control	Valoarea p
Calciu (mg/dl)*	9.8±0.4 (n=17)	9.40±0.4 (n=19)	p=0.03
Fosfor (mg/dl)*	4.1±0.4 (n=17)	3.8±0.4 (n=17)	p=0.16
Fosfataza alcalină (U/l)**	48 (19) (n=14)	52 (22) (n=19)	p=0.5
25 (OH) vitamina D (ng/ml)**	26.2 (16.7) (n=14)	21.9 (14.1) (n=18)	p=0.6
Estradiol (pg/m)**	24.2 (31) (n=16)	27.3 (25.2) (n=17)	p=0.6
FSH (mUI/ml)**	6 (3.8) (n=16)	7.4 (2.2) (n=18)	p=0.046
LH (mUI/ml)**	4.2 (5.8) (n=16)	7.3 (2.8) (n=18)	p=0.1
TSH (uUI/ml)**	1.5 (0.8) (n=18)	2 (1.3) (n=19)	p=0.02
ft4 (ng/dl)*	0.95±0.1(n=18)	1.1±0.1(n=19)	p=0.002

IGF-1(ng/ml)*	151±71 (n=11)	199±64 (n=16)	p=0.09
Scorul Z al IGF-1 (DS)***	8.3 (n=11)	17.9 (n=16)	p=0.001

*medie ± DS **mediane (IQR)***media rangului. Pragul semnificației statistice s-a considerat $p < 0.05$.

Legendă: AN- anorexie nervoasă, n- numărul de rezultate disponibile

Factori legați de demineralizarea osoasă

La nivelul întregii cohorte studiate, a reieșit că scorul Z al DMO lombar a diferă semnificativ în funcție de istoricul de amenoree secundară al pacientelor ($p=0.002$), fiind mai mic în cazul pacientelor cu amenoree secundară în momentul evaluării față de pacientele fără istoric pozitiv în acest sens ($-1.4 \pm 0.9DS$ vs $-0.1 \pm 0.7DS$, $p=0.002$). Aceeași asocieră între scorul Z lombar și istoricul de amenoree a fost relevată și de testul Fisher Exact (Cramer's $V=0.57$, $p=0.003$), 61.1% din toate pacientele cu amenoree secundară în curs sau în trecut, având scorul Z mai mic de $-1DS$.

Nu am găsit diferențe semnificative statistic între scorul Z al DMO a întregului corp ($p=0.15$), dar valorile TBS au fost semnificativ mai mari în rândul pacientelor fără istoric de amenoree secundară față de pacientele cu amenoree secundară în momentul evaluării (1.45 versus 1.36, $p=0.02$), așa cum a reieșit în urma analizei One Way ANOVA cu aplicarea post-hoc a testului Tukey.

Am analizat rolul greutatei asupra scorului Z lombar la pacientele cu AN într-un model de regresie liniară simplă, rezultând că greutatea de la momentul evaluării prezice într-un mod semnificativ statistic scorul Z al DMO lombare, $F(1,16)=10.1$, $p=0.006$, fiind responsabilă de o variație de până la 34% a acestuia. Ecuația de predicție rezultată a fost: scorul Z lombar = $-5.186 + (0.87 * \text{greutatea de la momentul evaluării})$.

Interpretarea rezultatelor

Atât rezultatele densitometriei corporale, cât și cele biologice au indicat că metabolismul osos este mult impactat la pacientele cu AN. Concret, aceste paciente au avut o DMO lombară mai mică față de controli, aceste rezultate fiind congruente cu datele publicate deja în literatură. Mai mult decât atât, la pacientele cu AN din studiul nostru, se pare că greutatea de la momentul evaluării DXA prezice aproximativ o treime din valoarea scorului Z lombar, ceea ce evidențiază impactul puternic pe care greutatea îl are asupra mineralizării osoase. Aceste date vin să întărească descoperiri anterioare, care stipulau deja că pacientele cu AN sunt la risc de fractură osoasă, riscul fiind, în unele studii, chiar dublu față de populația control, pentru orice tip de fractură de fragilitate atunci când DMO scade chiar și cu numai 1

DS (20).

În afară de greutate, am găsit diferențe biologice între pacientele cu AN și controlii din studiul nostru. Astfel, cele dintâi au prezentat un nivel seric ușor mai crescut de calciu, dar valori semnificativ mai mici ale hormonilor cu impact la nivel osos, cum ar fi TSH, fT4 și IGF1. Aceste diferențe hormonale ale pacientelor cu AN sunt bine-cunoscute și descrise în literatură și reprezintă în esență o modalitate de conservare a speciei prin limitarea cheltuielii energetice și direcționarea resurselor către funcțiile vitale (17). De asemenea, și nivelul mai mare de calciu de la aceste paciente este descris în literatură și explicat prin aportul mai mare de suplimente alimentare pe care aceste paciente și-l administrează, uneori fără a declara. Având în vedere caracterul transversal al studiului nostru, o anchetă alimentară riguroasă nu a putut fi făcută și astfel nu am putut controla rezultatele în funcție de aportul exogen de micronutrienți, bazându-ne în analiza noastră pe nivelele biologice ale principalilor factori cunoscuți a influența calitatea osoasă.

De asemenea, alte două rezultate ale acestui studiu sunt importante și merită discutate. Atunci când am analizat DMO lombară a pacientelor din studiul nostru împărțind cohorta în funcție de istoricul de amenoree secundară, am descoperit că pacientele cu amenoree secundară la momentul evaluării au avut atât un scor Z lombar, cât și o valoare TBS semnificativ mai mici față de pacientele fără istoric vreodată de amenoree secundară și față de pacientele cu amenoree secundară în trecut, remisă în prezent. Astfel, se dovedește că funcția reproductivă are un impact direct la nivel osos. Chiar dacă în studiul nostru, ipoteza testată a fost că absența menstruelor este aceea care condiționează densitatea osoasă, date interesante din alte studii direcționează cercetarea ulterioară și către investigarea impactului pe care tulburările subclinice de ciclu menstrual (21), cum ar fi disfuncția ovulatorie, îl au asupra osului și, de asemenea, asupra rolului androgenilor de tipul DHEAS asupra dinamicii osoase la pacientele cu AN (22).

În sfârșit, un rezultat foarte interesant al studiului nostru este reprezentat de valoarea TBS mai mică la pacientele cu AN față de controlii și că aceasta diferă în funcție de istoricul menstrual, fiind și ea condiționată negativ de absența menstruelor la momentul evaluării. Importanța acestui rezultat derivă mai ales din valoarea TBS în aprecierea riscului de fractură, fiind un factor independent de parametrii densitometrici. Mai mult, studiul TBS este potențial mai importantă decât analizarea DMO la pacientele tinere, întrucât s-a demonstrat că TBS atinge valoarea maximă la un an de la menarhă, deci înainte ca procesul de achiziție de masă osoasă să se fi încheiat (23), iar studiul acestui parametru la adolescente ar putea justifica abordări terapeutice care să optimizeze creșterea masei osoase în timp util.

II.5. Studiul 3. Relația dintre nivelul seric al kisspeptinei, ciclul menstrual și parametrii biologici ai funcției reproductive la pacientele tinere normo și subponderale

Obiectivul acestui studiu a fost să evalueze particularitățile indicatorilor funcției reproductive și să caute posibile implicații în acest sens ale neurohormonului kiss-1 la pacientele normo și subponderale, cu sau fără tulburare de comportament alimentar. În mod particular, acest studiu va pune accent pe rolul kisspeptinei în amenoreea indusă de restricția alimentară la pacientele cu AN.

Selectarea pacientelor

Am inclus în acest studiu toate pacientele evaluate în cadrul proiectului de doctorat, din care am exclus 4 paciente la care nu au fost disponibile rezultatele dozării kiss-1, rezultând astfel o cohortă de 34 de paciente ale căror date antropometrice și rezultate biologice și imagistice au fost prelucrate statistic.

Principalele rezultate

În tabelul de mai jos sunt sintetizate caracteristicile antropometrice și clinico-biologice ale pacientelor evaluate în funcție de statusul ponderal.

Tabelul II.5.1. Caracteristicile antropometrice și clinico-biologice ale pacientelor în funcție de statusul ponderal

	A Total	B Paciente subponderale	C Paciente normoponderale	p (între B și C)
Vârsta (ani)	22.7±6.6 (n=17)	22.6±7 (n=17)	22.8±6.3 (n=17)	NS
Amenoree secundară (%)	44.1% (n=34)	52.9% (n=17)	35.3% (n=17)	NS
AN (%)	50% (n=34)	58.8% (n=17)	41.2% (n=17)	NS
E2 (pg/ml)	27.3 (28.7) (n=34)	34.7 (51.6) (n=17)	24.6 (15.1) (n=17)	NS
LH (mUI/ml)	5.8 (4.9) (n=34)	4.8 (5.8) (n=17)	7.3 (4.3) (n=17)	p=0.004
FSH (mUI/ml)	6.9 (2.8) (n=34)	6.5 (2.9) (n=17)	7.5 (3) (n=17)	NS
Prolactina (ng/ml)	11.3 (9.2) (n=34)	9.4 (8) (n=17)	13.7 (13.4) n=17	NS
TSH (μU/L)	1 (0.1) (n=34)	1.79 (1.3) (n=17)	1.68 (1.9) (n=17)	NS
fT4 (ng/dl)	1.03±0.1 (n=34)	0.99±0.1 (n=17)	1.1±0.1 (n=17)	NS
TT3 (ng/dl)	75.2±21.2 (n=32)	70.1±25 (n=17)	81.1±14.7 (n=15)	p=0.02

Kiss-1 (ng/ml)	1 (0.3) (n=34)	0.98 (0.2) (n=17)	1.13 (0.38) (n=17)	NS
Procentul de grăsime totală (%)	25.7±6.1(n=33)	23.6±6.1 (n=16)	27.6±5.6 (n=17)	NS (p=0.06)

În privința kiss-1, aceasta nu a diferit între grupuri în funcție de greutatea de la momentul examinării, atunci când criteriul ales pentru departajarea pacienților a fost scorul z al IMC mai mic sau mai mare de -2DS (tab. III.5.1). Nu am găsit diferențe semnificative în nivelul kiss-1 nici când am departajat pacientele în funcție de prezența sau absența amenoreei secundare în momentul investigației (1.02±0.18 versus 1.1±0.26, p=0.3) sau de prezența, respectiv absența diagnosticului de anorexie nervoasă la momentul evaluării (1.03±0.19 versus 1.1±0.27, p=0.4). De asemenea, nu s-au găsit diferențe semnificative nici în funcție de stadiul Tanner al dezvoltării (1.07±0.17ng/ml pentru stadiul 4, respectiv 1.06±0.25ng/ml pentru stadiul 5, p=0.9). Kiss-1 nu a diferit în funcție de istoricul ciclului menstrual al întregii cohorte (ciclu menstrual prezent/amenoree secundară în prezent/amenoree secundară în istoric, p=0.6), iar compararea separată a pacienților cu AN în funcție de prezența/absența ciclului menstrual în momentul evaluării nu a evidențiat nici ea diferențe în nivelul kiss-1 (p=0.6).

Singura diferență semnificativă găsită în cazul kiss-1 a fost la pacientele cu AN, la care, în absența tratamentului psihiatric, aceasta este semnificativ mai mare în rândul pacienților cu AN atipică față de cele cu AN tipică, cu subponderalitate (p=0.03), așa cum a reieșit în urma analizei de varianță unilaterală ANOVA.

La nivelul întregii cohorte, kiss-1 nu a prezentat nicio corelație semnificativă cu parametrii studiați, cu excepția procentului total de grăsime (p=0.03, r=0.365).

Un ultim obiectiv al acestui studiu a fost să găsească determinanții independenți ai ciclului menstrual. În acest sens, am realizat un test de regresie logistică binominală în care am introdus ca variabile independente parametrii față de care am demonstrat în analiza bivariată că ciclul menstrual prezintă o asocieră semnificativă. Modelul validat statistic a fost format din 4 componente: diagnosticul de AN, greutatea de la momentul evaluării, LH și FSH, explicând aproximativ 73% din variația ciclului menstrual și prezicând corect 88% din cazuri. Aria de sub curbă (ROC) a fost de 0.947, IC 95% 0.87-1, p<0.001, fig. II.5.3

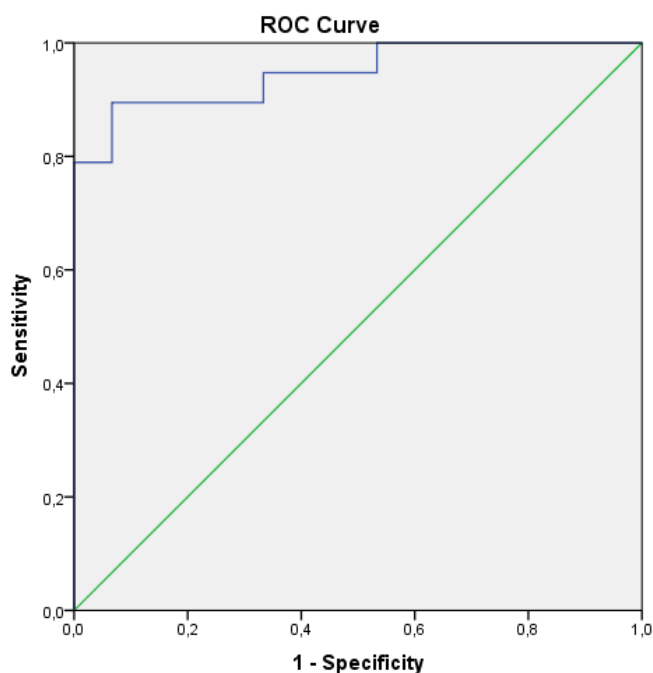


Figura II.5.3 Valoarea predictivă a modelului de regresie logistică binominală pentru ciclul menstrual

Interpretarea rezultatelor

În cadrul acestui studiu am găsit că nu există nicio diferență în nivelul de kiss-1 al pacientelor evaluate în funcție de greutate, vârstă, prezența sau absența diagnosticului de AN, prezența sau absența ciclului menstrual în momentul evaluării. De asemenea, nu am găsit nici asocieri ale kiss-1 cu indicatorii biologici ai reproducerii, cum ar fi E2, gonadotropinele hipofizare sau prolactina. Deși implicarea kiss-1 în reglarea funcției reproductive este certă și rolul său în declanșarea pubertății a fost dovedit, rezultatele noastre nu sunt neapărat surprinzătoare, întrucât nici în alte studii similare publicate până acum nu s-au găsit astfel de diferențe notabile sau asocieri. Chiar dacă nu am reușit să evidențiem nicio legătură certă la pacientele evaluate între gonadotropinele hipofizare și kiss-1, în studii experimentale anterioare s-a observat că administrarea de kiss-1 crește secreția de LH și FSH (24), patentând astfel influența pe care acest neuropeptid o are asupra axului gonadal. În schimb, un rezultat concordant cu al altui cercetător a fost acela că la pacientele cu AN forma atipică, deci cu greutate normală, kiss-1 este semnificativ mai mare decât în cazul AN tipice, cu greutate mult scăzută (25). O dinamică asemănătoare a fost găsită și la pacientele perimenopauzale, cu menstră încă prezentă (26), care se pare au, de asemenea, un nivel mai crescut al kiss-1. Explicația pentru acest lucru se pare că rezidă în faptul că la această categorie de paciente kiss-1 crește în încercarea de a menține secreția hormonală a ovarelor (25).

Un ultim obiectiv al acestui studiu a fost să identifice factorii asociați cu amenoreea

secundară, iar la pacientele studiate, aceștia s-au dovedit a fi diagnosticul de AN, greutatea de la momentul evaluării, PTG și nivelul hormonilor tiroidieni și al gonadotropinelor hipofizare. De altfel, diagnosticul de AN împreună cu nivelul FSH sunt predictorii puternici ai ciclului menstrual, așa cum a reieșit din analiza de regresie logistică binominală, pe care am efectuat-o ulterior. Faptul că existența diagnosticului de AN impactează puternic variabilitatea ciclului menstrual este concordant cu ceea ce se știa deja despre afectarea menstruală a pacientelor cu AN, cu atât mai mult cu cât până în urmă cu 7 ani, existența amenoreei condiționa diagnosticul pozitiv de AN. De când DSM-5 a eliminat obligativitatea absenței menstruelor din clinica acestor paciente se estimează că, așa cum am menționat anterior, prevalența AN în populație a crescut, prin formele de AN atipică, dar și prin includerea printre cazurile pozitive a pacientelor aflate în tratament de substituție estro-progestativă, a pacientelor aflate la menopauză și a pacienților de sex masculin (9).

II.6 Studiul 4. Explorarea rolului kisspeptinei în reglarea metabolică la pacientele normo și subponderale.

Obiectivul acestui studiu a fost să investigheze rolul posibil al kiss-1 în reglarea parametrilor metabolici, la pacientele tinere normo și subponderale constituțional sau care suferă de AN.

Selectarea pacientelor

Pentru acest studiu am selectat din întreaga cohortă de 38 de paciente, doar pacientele la care am avut disponibilă dozarea kiss-1, rezultând astfel, la fel ca și în studiul 3, o cohortă de 34 de paciente, cu sau fără tulburare de comportament alimentar de tipul AN. Din întreaga cohortă studiată, 4 paciente urmau tratament de substituție cu Euthyrox, fiind eutiroidiene la momentul investigației.

Pacientele au fost evaluate clinic, biologic și imagistic prin scanare DXA corp total pentru aprecierea compoziției corporale din care am reținut masa grasă totală, procentul total de grăsime (PTG) și raportul grăsime androidă/grăsime ginoidă (A/G). În urma evaluării clinice și biologice, am calculat și factorii compoziți:

-indicele HOMA după formula $HOMA = \frac{\text{glicemia} \times \text{insulina}}{405}$ (27)

-indicele QUICKI de insulino-sensibilitate, după formula $QUICKI = \frac{1}{[\log(\text{insulină}) + \log(\text{glicemie})]}$ (28)

-indicele de adipozitate viscerală, după formula $VAI = \left\{ \frac{CA}{[36.58 + (1.89 \times IMC)]} \right\} \times (Tg/0.81) \times (1.52/HDL)$ (29), după ce am făcut conversia TG și a HDL din mg/dl în mmol/L,

împărțind valoarea Tg la 88.5, iar valoarea HDL la 38.6 (30).

Principalele rezultate

Kisspeptina și indicatorii antropometrici

La nivelul întregii cohorte studiate, nu s-a găsit nicio asociere semnificativă între logaritmul kiss-1 și G, IMC, scorul z al IMC, CA, CS, CA/H, CA/CS în analiza bivariată.

De asemenea, nu am găsit corelații între parametrii mai sus-menționați nici când am împărțit pacientele în funcție de diagnosticul de AN și nici când am studiat relația lor în funcție de diagnosticul de AN și G de la momentul evaluării (AN cu subponderalitate, AN cu G normală, AN cu G normalizată în urma tratamentului psihiatric, SC și normponderale fără AN).

În schimb, la pacientele normoponderale se pare că kiss-1 se asociază negativ cu valoarea IMC ($r=-0.78$, $p=0.01$). În urma analizei de regresie liniară simplă, am evidențiat că IMC este un predictor semnificativ al kiss-1 la pacientele normoponderale din studiu ($F(1,15)=6,4$, $p=0.02$), explicând între 25-30% din variația acesteia. Ecuația de regresie a fost următoarea: $\text{kiss-1} = 2.598 + (-0.078 \cdot \text{IMC})$. Pentru valori ale IMC din sfera obezității, modelul și-a pierdut valoarea predictivă.

Kisspeptina și masa grasă

Am investigat posibilele asocieri dintre aceasta și indicatorii masei grase, derivați atât din analiza DXA a compoziției corporale, cât și prin calcularea indicelui compozit VAI, ce indică gradul de adipozitate viscerală. Astfel, am considerat pentru analiza bivariată, pe lângă kiss-1, PTG, A/G și VAI, iar la nivelul întregii cohorte kiss-1 se corelează pozitiv cu PTG ($r=0.365$, $p=0.04$), dar în afară de aceasta, nicio altă corelație nu a fost găsită. Analizând separat doar pacientele cu diagnostic de AN, am găsit de asemenea o asociere pozitivă între kiss-1 și PTG ($r=0.511$, $p=0.04$) și o altă corelație, foarte aproape de pragul semnificației statistice ($p=0.053$), între kiss-1 și raportul A/G ($r=0.493$).

Kisspeptina și RMR

Între kiss-1 și RMR prezis (RMRp), nu s-a găsit nicio corelație la nivelul întregii cohorte. La pacientele cu diagnostic de AN, indiferent de statutul ponderal, s-a găsit o asociere pozitivă între RMRp și IMC ($r=0.721$, $p=0.001$), G în momentul evaluării ($r=0.865$, $p<0.001$) și raportul A/G ($r=0.524$, $p=0.04$). La pacientele fără diagnostic de anorexie nervoasă, această corelație din urmă s-a pierdut, dar s-a evidențiat o asociere pozitivă între RMRp și VAI

($r=0.505$, $p=0.04$) (fig. III.6.1). Nici asocierea RMRp cu VAI și nici cu raportul A/G nu s-au menținut la niciunul dintre grupurile rezultate în urma împărțirii în funcție de statusul ponderal, în sub și normoponderal în funcție de scorul z al IMC stabilit la cut-off-ul de -2DS. Mai mult, la grupul de paciente cu G mai mare de -2DS, s-a pierdut chiar și corelația dintre RMRp și IMC ($p=0.7$). În ceea ce privește pacientele cu SC, acestea au prezentat o asociere pozitivă doar între G și RMRp. Nicio asociere nu s-a găsit între RMRp și kisspeptină la niciun grup studiat.

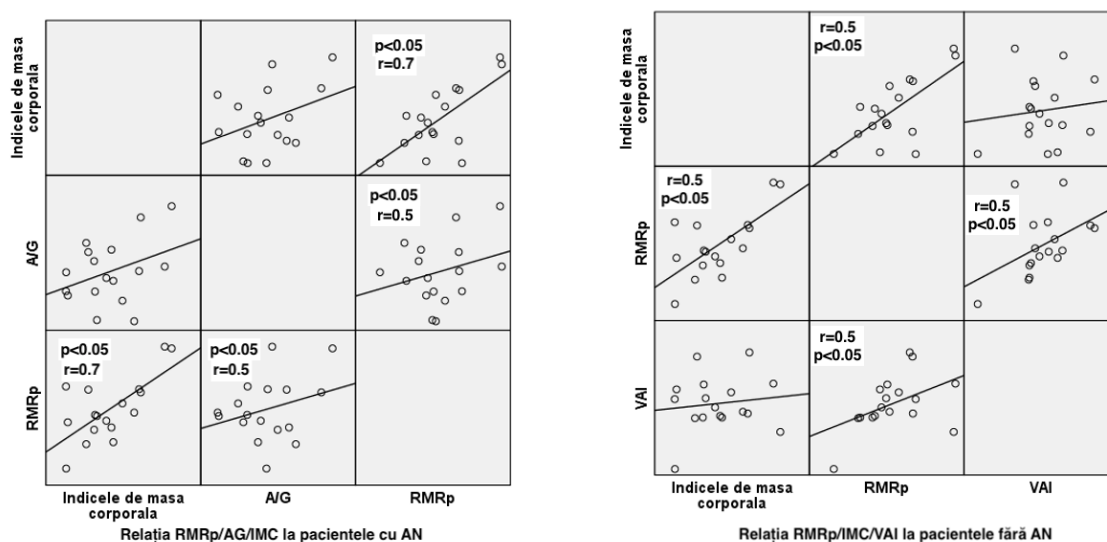


Figura II.6.1. Relația dintre RMRp și indicatorii balanței energetice la pacientele cu și fără AN

Kisspeptina și indicatorii secreției de insulină

Un ultim obiectiv al studiului nostru a fost să identifice un posibil rol al kiss-1 în reglarea metabolismului glucidic. Astfel, am cercetat relația dintre kiss-1 și glicemie, insulina și indicatorii compoziți reprezentați de indicii HOMA și QUICKI. La nivelul întregului grup, kiss-1 nu s-a asociat semnificativ cu niciunul dintre parametrii studiați. Cea mai puternică corelație, deși nesemnificativă, a fost cu indicele QUICKI ($r=-0.3$, $p=0.09$). De asemenea, indicele QUICKI a fost mai mare în grupul cu AN, dar diferența, deși semnificativă, nu a fost valoric mare (0.39 versus 0.36, $p=0.03$). Mai mult, la pacientele cu AN am găsit atât un nivel de insulină, cât și o valoare a indicelui HOMA mai mici decât la controli (tab. II.6.1).

Tabelul II.6.1. Valorile indicatorilor metabolismului glucidic în funcție de prezența/absența diagnosticului de AN

	AN +	AN -	Valoarea p
Glicemie (mg/ml)	89±10	84±4	NS
Insulină (uUI.ml)	4.3 (3.1)	5.6 (3.93)	p=0.008

HOMA	0.89 (0.75)	1.13 (0.82)	p=0.04
QUICKI	0.39±0.06	0.37±0.02	p=0.04

Totodată, în grupul de paciente cu AN, kiss-1 s-a corelat semnificativ cu insulina ($r=0.51$, $p=0.04$), cu indicele QUICKI ($r=-0.636$, $p=0.01$), dar și cu glicemia ($r=0.561$, $p=0.03$) și cu indicele HOMA ($r=0.63$, $p=0.01$); toate corelațiile s-au menținut după ce am corectat pentru greutate. Niciuna dintre aceste corelații nu au mai fost valabile la grupul control.

Interpretarea rezultatelor

În ceea ce privește parametrii antropometrici evaluați, reprezentați de greutate, IMC și scor z al IMC, CA, CS și rapoartele CA/CS, CA/H, kiss-1 nu s-a corelat cu niciunul dintre ei la nivelul întregii cohorte, însă, la paciențele normoponderale, am găsit o corelație negativă între aceasta și IMC. De altfel, asocieri similare s-au mai găsit în literatură și la paciențele cu AN tipică sau cu SOPC. Mai mult, în studii experimentale, s-a observat că kiss-1 ar putea scădea aportul alimentar (31), oferind o explicație pentru rezultatul nostru.

Referitor la nivelul PTG, acesta este, așa cum am menționat și mai sus, mai mic la paciențele cu AN, care prezintă, de altfel, și o corelație pozitivă între acesta și kiss-1. Studiului nostru i-a lipsit o componentă longitudinală, care să ne permită să analizăm evoluția PTG pe termen lung la aceste paciente, îndeosebi la cele care recuperează greutatea, dar datele existente indică o tendință către adipozitate centrală.

În studiul prezentat, nu am găsit o influență a kiss-1 asupra RMR prezis, care pare a se corela semnificativ cu greutatea, IMC și raportul A/G. În mod interesant, la aceleași paciente, kiss-1 se corelează și cu indicatorii metabolismului glucidic, reprezentați de insulină, glicemie și indicii HOMA și QUICKI, demonstrând astfel puternicele implicații metabolice ale kiss-1, care necesită o explorare viitoare mai amplă.

II.7. Concluzii și contribuții personale

În lucrarea de față ne-am îndreptat atenția către paciențele cu potențial reproductiv, cu debut pubertar prezent și aflate înainte de menopauză și ne-am axat în principal pe elementele distinctive pe care le regăsim din punct de vedere metabolic, osos și reproductiv la paciențele cu AN, față de cele cu SC sau normoponderale. În urma celor 4 studii desfășurate, am ajuns la următoarele concluzii:

➤ AN este o patologie ce prezintă mare variabilitate clinică, de evoluție și outcome și adeseori este dificil de distins față de SC, ce apare în același interval de vârstă și este

caracterizată, de asemenea, de o greutate scăzută;

- Pacientele cu AN au un aport caloric mai mic și o greutate mult scăzută față de pacientele control, fără acest diagnostic;
- AN tipică este caracterizată de un PTG mai mic și de un profil lipidic și hormonal alterat față de pacientele cu SC;
- Pacientele cu AN au un istoric menstrual caracterizat frecvent de amenoree secundară și chiar de o vârstă mai mică la menarhă față de pacientele control;
- Scorul Z al DMO lombare și valoarea TBS sunt semnificativ mai mici la pacientele cu amenoree secundară în momentul evaluării, iar pacientele cu AN au un scor Z al DMO lombare și un TBS mai mici decât pacientele fără acest diagnostic, indiferent de existența sau nu a amenoreei secundare în momentul evaluării;
- Scorul Z al DMO lombare este mult influențat de greutatea de la momentul evaluării, la pacientele cu AN;
- Kiss-1 este mai mare la pacientele cu AN forma atipică, față de cele cu forma tipică, cu greutate scăzută;
- Ciclul menstrual este influențat de prezența diagnosticului de AN, de greutatea de la momentul evaluării, de PTG și de nivelul hormonilor tiroidieni și al gonadotropinelor hipofizare;
- Kiss-1 este corelată cu PTG, iar un predictor important al nivelului acesteia este valoarea IMC de la momentul evaluării;
- Kiss-1 este asociat cu indicatorii metabolismului glucidic la pacientele cu AN;
- RMR prezisă a pacientelor cu AN este corelată pozitiv cu raportul dintre grăsimea androidă și cea ginoidă la aceste paciente.

Plusurile studiului prezentat

Acest studiu doctoral adună câteva elemente importante, care contribuie la originalitatea lui și dau valoare informației pe care acesta o aduce literaturii științifice.

Astfel, am reușit în cadrul acestui proiect să evaluăm o categorie de paciente care își neagă afecțiunea, sunt reticente la a cere și primi ajutor medical și cu atât mai mult la a accepta expunerea științifică pe care participarea la un studiu de genul acesta o implică. În țara noastră nu este pusă la punct o infrastructură medicală care să concentreze într-un singur punct tot ajutorul specializat de care aceste paciente au nevoie și considerăm că evaluarea pacientelor cu AN în aceste condiții este salutară.

De asemenea, evaluarea temeinică a pacientelor cu SC, sănătoase din punct de vedere

metabolic și clinic este importantă și valoroasă, deoarece SC este o entitate medicală pierdută din vedere, puțin cunoscută oamenilor de știință sau medicilor în intimitatea ei și explorarea acestui domeniu a captat arareori atenția specialiștilor din domeniu.

Un alt plus al acestui studiu este reprezentat de evaluarea densitometriei osoase prin examen DXA la o categorie de paciente care clasic nu sunt considerate la risc pentru fractură, deși evidențele științifice pentru AN susțin contrariul. În plus, o mare valoare o aduce studiului evaluarea compoziției corporale prin absorbtometrie duală, care astăzi este considerată standardul de aur pentru acest scop și care nu se efectuează în mod obișnuit în practica clinică curentă.

În cele din urmă, dozarea neuropeptidului kiss-1 este probabil una dintre cele mai mari contribuții ale acestui studiu la literatura de specialitate, întrucât, după cunoștințele noastre, doar un număr extrem de mic de studii au fost desfășurate în țara noastră având ca obiect dozarea acestui hormon, toate din acestea fiind axate pe implicarea kiss-1 în declanșarea pubertății. Mai mult, chiar și la nivel internațional nu am găsit decât câteva grupuri de cercetători care să analizeze implicarea kiss-1 la nivel reproductiv și metabolic la pacientele cu AN. Trebuie de asemenea menționat că AN în general face obiectul puținor studii, atât la nivel internațional, dar mai ales în România.

Limitările studiului

Desigur, acest proiect este grevat și de o serie de limitări care trebuie menționate pentru a putea interpreta cu precauție rezultatele sale și a le pune în contextul potrivit.

Astfel, principala limitare a studiului, după părerea noastră, este numărul mic de participanți și lipsa constituirii unui lot control format exclusiv din paciente normoponderale și, eventual, a unui lot mai mare format din pacientele subponderale. Desigur, ar fi fost oportună și evaluarea unui număr mai mare de paciente cu AN, dar în condițiile mai sus menționate și având în vedere că majoritatea studiilor care au ca obiect evaluarea AN sunt realizate pe un efectiv mic de pacienți, considerăm numărul acestora satisfăcător.

În al doilea rând, pentru o acuratețe mai mare a rezultatelor ar fi fost utilă o mai mare omogenitate a cohorței studiate, în sensul în care lotul de paciente cu AN a cuprins atât paciente cu forma tipică, dar și paciente cu forma atipică sau aflate în tratament psihiatric, ce poate influența unele rezultate. În plus, deși majoritatea pacientelor cu AN prezentau forma restrictivă a bolii, un număr mic de paciente prezentau la momentul evaluării simptome din sfera binge-eating/purging.

În ceea ce privește designul studiului, considerăm o limitare importantă lipsa

caracterului longitudinal care ne-ar fi aduc informații valoroase în ceea ce privește comportamentul alimentar și evoluția pe termen mediu și lung a acestor paciente.

În cele din urmă, regăsim câteva limitări importante și la nivelul modului de evaluare a pacientelor. În primul rând, în cazuri punctuale, ne lipsesc câțiva parametri din analiza DXA sau din evaluarea biologică, care, pe alocuri, împuținează și mai mult numărul de cazuri studiate. De asemenea, nu am beneficiat de o evaluare satisfăcătoare a funcției adrenale, care are impact teoretic la nivel osos, metabolic și reproductiv, mai ales la pacientele cu AN, întrucât am ales să nu introducem în analiză valorile cortizolului matinal, singurele de care am dispus în acest sens, pe care, în condițiile unei spitalizări de zi, le-am considerat insuficiente pentru a aprecia activitatea glandelor suprarenale. În ceea ce privește dozarea neuropeptidului kiss-1, pe care am efectuat-o matinal, la începutul fazei foliculare la pacientele menstruale și aleatoriu la pacientele cu amenoree, datele din literatură nu ne pot elucida în prezent în privința momentului oportun din zi și de-a lungul ciclului menstrual pentru dozarea acestui hormon. O altă limitare a studiului, care poate reprezenta de fapt o direcție de cercetare în viitor, este reprezentată de lipsa dozării unor factori, alții decât kiss-1, aflați și ei la puntea dintre reproducere și balanța energetică, cum ar fi leptina, nesfatina-1, NPY etc.

Direcții de cercetare viitoare

La finalul acestui proiect de doctorat, identificăm mai multe linii viitoare de activitate:

- Adăugarea unei componente longitudinale și prospective studiului prezentat;
- Lărgirea lotului de pacienți cu AN și SC și includerea în studiu și a pacienților de sex masculin;
- Dozarea seriată a kiss-1 în diferite faze ale ciclului menstrual, îndeosebi pe și post ovulator în vederea descrierii mai bine a dinamicii acestui hormon;
- Dozarea și a altor markeri ai reproducerii și balanței energetice, cum ar fi, pe lângă kiss-1, a leptinei, nesfatinei-1, NPY, PPY, ghrelinei etc.
- Adăugarea unei componente intervenționale studiului în ceea ce privește sănătatea osului pacientelor cu AN;
- Popularizarea prin comunicări orale, postere, articole științifice și în social media a tulburărilor de comportament alimentar, atât în rândul comunității medicale, cât și în rândul populației, pentru o mai bună înțelegere, recunoaștere, toleranță și acceptare a acestei patologii;
- Inițierea unui centrul medical integrativ și dedicat pacienților cu tulburare de comportament alimentar, care să adune într-un singur loc tot ajutorul specializat de care acești pacienți au nevoie.

III. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Fontana R, Della Torre S. The deep correlation between energy metabolism and reproduction: A view on the effects of nutrition for women fertility. *Nutrients*. 2016;8(2).
2. Lieberman JL, De Souza MJ, Wagstaff DA, Williams NI. Menstrual Disruption with Exercise Is Not Linked to an Energy Availability Threshold. Vol. 50, *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2018. 551–561 p.
3. Torre S Della, Benedusi V, Fontana R, Maggi A. Energy metabolism and fertility - A balance preserved for female health. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2014;10(1):13–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2013.203>
4. Cooper R. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM). Vol. 44, Knowledge Organization. 2013. 668–676 p.
5. Cole TJ, Flegal KM, Nicholls D, Jackson AA. Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: International survey. *Br Med J*. 2007;335(7612):194–7.
6. Must A, Anderson SE. Body mass index in children and adolescents: Considerations for population-based applications. *Int J Obes*. 2006;30(4):590–4.
7. Steinhausen HC. The outcome of anorexia nervosa in the 20th century. *Am J Psychiatry*. 2002;159(8):1284–93.
8. Wade TD. *Epidemiology of Eating Disorders : Creating Opportunities*. 2007;(September):27–30.
9. Mustelin L, Silén Y, Raevuori A, Hoek HW, Kaprio J, Keski-Rahkonen A. The DSM-5 diagnostic criteria for anorexia nervosa may change its population prevalence and prognostic value. *J Psychiatr Res*. 2016;77:85–91.
10. Muñoz-Calvo MT, Argente J. Nutritional and pubertal disorders. *Endocr Dev*. 2016;29:153–73.
11. Bang EB, Ko JK, Kwag KH, Lee GY, Kim YR. A comparison of patients with anorexia nervosa and women who are constitutionally thin. *Eur Eat Disord Rev*. 2020;(October 2019):1–10.
12. Hussain AA, Hübel C, Hindborg M, Lindkvist E, Kastrup AM, Yilmaz Z, et al. Increased lipid and lipoprotein concentrations in anorexia nervosa: A systematic review and meta-analysis. *Int J Eat Disord*. 2019;52(6):611–29.
13. Jáuregui-Garrido B, Bolaños-Ríos P, Santiago-Fernández MJ, Jáuregui-Lobera I. Perfil lipídico y riesgo cardiovascular en anorexia nerviosa; efecto del tratamiento

- nutricional. *Nutr Hosp*. 2012;27(3):908–13.
14. Nakai Y, Noma S, Fukusima M, Taniguchi A, Teramukai S. Serum lipid levels in patients with eating disorders. *Intern Med*. 2016;55(14):1853–7.
 15. Chen JE, Glover GH. The endocrine manifestations of anorexia nervosa: mechanisms and management. 2017;25(3):289–313.
 16. Estour B, Marouani N, Sigaud T, Lang F, Fakra E, Ling Y, et al. Differentiating constitutional thinness from anorexia nervosa in DSM 5 era. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2017;84:94–100. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.06.015>
 17. Støvning RK. Anorexia nervosa and endocrinology : a clinical update. 2019;
 18. Maïmoun L, Guillaume S, Lefebvre P, Philibert P, Bertet H, Picot MC, et al. Evidence of a link between resting energy expenditure and bone remodelling, glucose homeostasis and adipokine variations in adolescent girls with anorexia nervosa. *Osteoporos Int*. 2016;27(1):135–46.
 19. Ilyas A, Hübel C, Stahl D, Stadler M, Ismail K, Breen G, et al. The metabolic underpinning of eating disorders: A systematic review and meta-analysis of insulin sensitivity. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2019;497. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.10.005>
 20. Grinspoon S, Thomas E, Pitts S, Gross E, Mickley D, Miller K, et al. Prevalence and predictive factors for regional osteopenia in women with anorexia nervosa. *Ann Intern Med*. 2000;133(10):0–4.
 21. Li D, Hitchcock CL, Barr SI, Yu T, Prior JC. Negative spinal bone mineral density changes and subclinical ovulatory disturbances-prospective data in healthy premenopausal women with regular menstrual cycles. *Epidemiol Rev*. 2014;36(1):137–47.
 22. Gordon CM, Grace E, Emans SJ, Goodman E, Crawford MH, Leboff MS. Changes in bone turnover markers and menstrual function after short- term oral DHEA in young women with anorexia nervosa. *J Bone Miner Res*. 1999;14(1):136–45.
 23. Dowthwaite JN, Winzenrieth R, Binkley N, Krueger D, Scerpella TA. A focused evaluation of lumbar spine trabecular bone score in the first year post-menarche. *Arch Osteoporos*. 2017;12(1).
 24. Navarro VM, Castellano JM, Fernández-Fernández R, Tovar S, Roa J, Mayen A, et al. Characterization of the potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54. *Endocrinology*. 2005;146(1):156–63.

25. Bacopoulou F, Lambrou G, Rodanaki M-E, Stergioti E, Efthymiou V, Deligeoroglou E, et al. Serum kisspeptin concentrations are negatively correlated with body mass index in adolescents with anorexia nervosa and amenorrhea. 2017.
26. Katagiri F, Kotani M, Hirai T, Kagawa J. The relationship between circulating kisspeptin and sexual hormones levels in healthy females. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2015;458(3):663–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.021>
27. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412–9.
28. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: A simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(7):2402–10.
29. Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, et al. Visceral adiposity index: A reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*. 2010;33(4):920–2.
30. Ruge B, Balslem H, Sehgal R. Screening and Subclinical Hypothyroidism or Hyperthyroidism. Agency for Healthcare Research and Quality U.S. Department of Health and Human Services. 2011.
31. Merhi Z, Thornton K, Bonney E, Cipolla MJ, Charron MJ, Buyuk E. Ovarian kisspeptin expression is related to age and to monocyte chemoattractant protein-1. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(4):535–43.