

PARTICULARITĂȚI METODOLOGICE ÎN CERCETAREA REZERVEI OVARIENE A PACIENTELOR CU SINDROMUL OVARIAN POLICHISTIC

Victoria Voloceai-Grejdian – doctorand,
IP USMF „Nicolae Testemițanu”

Rezumat

În lucrare sunt prezentate unele particularități metodologice în cercetarea rezervei ovariene a pacientelor cu sindromul ovarian polichistic. Ținta de realizare a scopului și obiectivelor trasate a cercetării în cauză arată menirea de a pune în vizor un complex de particularități metodologice, folosite pentru realizarea acestei probleme cum ar fi: incidența sindromului ovarian polichistic. statutul hormonal.

Cuvinte-cheie: particularități metodologice, rezerva ovariană, sindromul ovarian polichistic

Summary. Methodological features of ovarian reserve in patients with polycystic ovary syndrome

The article presents some methodological features in research of ovarian reserve in patients with polycystic ovary syndrome. The goal of the research tasks designed so present the complex methodological features and for solving these problems, such as: the incidence of polycystic ovary syndrome, hormonal status, to carry out the optimal induction of ovulation and pregnancy appearance of polycystic ovary syndrome patients. Studies were conducted involving patients sick polycystic ovary syndrome. Research methods: historical, laboratory, analytical, epidemiology, descriptive epidemiology, mathematical.

Key words: some methodological, ovarian reserve, polycystic ovary syndrome

Резюме. Методологические особенности в исследовании овариального резерва у больных с синдромом поликистозных яичников

В статье представлены некоторые методологические особенности в исследовании овариального резерва у больных с синдромом поликистозных яичников. Целью исследования является изучения комплекса методологи-

ческих особенностей, используемых для решения этой проблемы. Таких как: заболеваемость синдромом поликистозных яичников, гормональный статус, проведение оптимальной индукции овуляции и появление беременности у больных с синдромом поликистозных яичников.

Ключевые слова: методологические особенности, овариального резерва, синдромом поликистозных яичников.

Introducere

Țintă în realizarea scopului și obiectivelor trasate a cercetării în cauză are menirea de a pune în vizor un complex de particularități a metodologiei acestui studiu, care țin de problema tratamentului chirurgical laparoscopic și rezerva ovariană în polichistoza ovariană: incidența SOP, fenotipul SOP, statutul hormonal, metodele contemporane de diagnostic și tratament, conduita optimă de inducere a ovulației și survenire a sarcinii.

Caracteristica generală a cercetării și proiectarea eșantionului reprezentativ

Cercetarea în cauză este randomizată și bidirecționată, în care s-au utilizat următoarele metode de cercetare: interviul standard, cercetarea integrală și selectivă, analiza datelor din actele medicale, investigații clinice și paraclinice de laborator și instrumentale, anchetarea, analiza matematică și statistică a rezultatelor obținute.

Studiul a fost efectuat la Catedra Obstetrică și Ginecologie, baza clinică IMSP SCM nr. 1 în cadrul secției de Ginecologie aseptice nr. 1, Laboratorul Centrului Republican de Diagnostic Medical.

Complexul diagnostic a inclus următoarele examinări:

I Clinice: – culegerea datelor clinico-anamnestic

- examenul obiectiv
- examenul ginecologic în examenul de laborator:
1. Examinări specifice pentru diagnosticul SOP:
-LH -FSH

- Testosteron
- Estradiol
2. Aprecierea serologică a rezervei ovariene (AMH)

3. Examinări instrumentale:
Examenul USG
4. Statistici de programare și prelucrare a datelor obținute.

În studiu au fost incluse pacientele cu SOP și care strict corespund criteriilor de la Rotterdam. Criteriile de excludere din studiu au fost următoarele:

- Tumorile ovariene androgensecretoare
- Hipotireoza primară
- Patologia ficatului cu dereglarea sintezei de proteine
- Hirsutism idiopatic.

Metodologia de calculare a numărului necesar de paciente pentru includerea în studiu

Studiul realizat după caracterul său este discriptiv și analitic (integral și selectiv reprezentativ). După secvența de timp s-a divizat în 2 etape: studiu discriptiv retrospectiv și studiu analitic prospectiv.

1. Studiul discriptiv retrospectiv

Cercetarea retrospectivă a fost de tip caz-martor și s-a efectuat în perioada anilor 2008 - 2012. Cercetarea integrală s-a efectuat în funcție de persoană, loc și timp. Pentru cercetarea retrospectivă a fost creat un singur lot: pacienții care au fost diagnosticați cu SOP și au fost supuse tratamentului prin drilling ovarian laparoscopic.

Selectarea eșantionului studiului discriptiv retrospectiv reprezentativ a fost realizat în baza următoarelor principii: Unitățile care se extrag din totalitatea de origine nu se mai repetă; Selecția este potențială randomizată elementelor din populație; Rezultatele obținute vor fi descrise pentru întreaga colectivitate statistică.

Alegerea volumului eșantionului studiului discriptiv retrospectiv a implicat echilibrarea necesității analizei cu capacitatea de culegere a datelor din statistica oficială a Direcției „Sănătatea femeii și copilului” a Ministerului Sănătății și a „Biroului național de statistică”. Conform datelor de la 1 ianuarie 2012, în Republica Moldova au fost înregistrate **978130** femei de vârstă fertilă (15-49 ani), dar și din sursele internaționale polichistoza ovariană variază între 5% - 15% din patologia femeilor de vârstă fertilă.

Pentru calcularea eșantionului pentru Republica Moldova a fost stabilită media de 10%. Conform calculului se constată că fiecare a 8-a femeie suferă de polichistoza ovariană. În calcularea volumului eșantionului a fost utilizată formula din manualul „Metode matematice în analiza stării de sănătate”, autor Petru Mureșanu, Editura Medicală, București, 1989, p.574.

În calcularea volumului eșantionului a fost utilizată formula:

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot P \cdot q}{N \cdot \Delta_x^2 + t^2 \cdot x \cdot P \cdot q} \quad (1)$$

unde:

N - volumul totalității generale. Conform datelor „Biroului național de statistică” de la 1 ianuarie 2012,

în Republica Moldova au fost înregistrate **978130** femei de vârstă fertilă (15 - 49 ani).

p - probabilitatea de apariție a fenomenului.

q - contraprobabilitatea de apariție a fenomenului.

Ținând cont de faptul că probabilitatea de apariție a fenomenului (p) este egală cu 10%, adică p - q, deci p = 0,1%; q = 1 - 0,1 = 0,9%.

t - 1,96² criteriu student pentru atingerea nivelului de confidențialitate de 95%.

Criteriul Student determină gradul de corespundere a rezultatelor reale cu cele obținute în rezultatul studiului.

Dat fiind obiectivitatea și specificitatea problemei, este necesar un factor de probabilitate de 99%, unde t = 3 și o eroare limită admisă Ax = 0,1.

Ax - eroarea limită admisă 0,05 a indicelui „p”, unde x = 0,1.

Luând în considerație faptul că „n” este maxim când produsul „Pq” este maxim și ținând cont de faptul că 0 < P < 1 și q ~ 1 - P, produsul este maxim atunci când P = q = 0,9, introducând cifrele în formulă obținem:

$$N = \frac{978130 * 1,96^2 * 0,1 * 0,9}{978130 * 0,05^2 + 1,96^2 * 0,1 * 0,9} = 138.$$

Astfel, volumul necesar al eșantionului discriptiv retrospectiv a constituit **138** femei cu polichistoza ovariană.

2. Studiul analitic clinic prospectiv

Studiul clinic analitic prospectiv a fost unul de cohortă, efectuat în perioada octombrie 2012 - mai 2014. Pentru calcularea volumului eșantionului studiului analitic clinic prospectiv a fost utilizată următoarea formulă:

$$n = P(1-P)(Za/d)^2(2)$$

unde:

d - distanța sau toleranța - cât de aproape de proporția care ne interesează dorim să fie valoarea estimată (d-0.05);

(1 - a) - nivelul de încredere - că valoarea estimată este în cadrul distanței proporției cercetate, pentru 95,0% de veridicitate rezultatelor obținute, Za=1,96;

P - conform datelor bibliografice (NIH, 1990; AES, ESHRE 2012) pacientele cu SOP (6,1%,15,5%, 19,9%) media aproximativ 10,0% (P=0,10).

Introducând datele în formulă am obținut n = 0,10 x 0,90 (1,96/0,05)² - 138. Așadar, lotul de cercetare trebuie să includă nu mai puțin de 138 de paciente cu SOP.

Cercetarea a fost desfășurată în câteva etape.

La **I etapă** s-a prezentat o analiză generală a pacienților în baza datelor obținute din chestionarul elaborat pentru cercetare. După aplicarea testului pentru determinarea mărimii AMH în dependență de rezul-

tatele obținute s-a efectuat autodivizarea lotului de cercetare.

La **etapa II** pacientele au fost supuse tratamentului chirurgical conform Protocolului clinic.

La **etapa III** au fost analizate rezultatele tratamentului în funcție de valoarea AMH postoperator. Metodele de cercetare utilizate au fost:

- Istorică
- Clinice
- Paraclinice
- Epidemiologia analitică
- Epidemiologia descriptivă
- Matematici.

3. Protocolul investigațional

Investigațiile clinice au fost efectuate la 138 de paciente cu SOP care au fost supuse tratamentului prin drilling laparoscopic ovarian, toate întrunind cerința de bază și anume Clomifen rezistență.

Vârsta medie a pacientelor incluse în studiu a fost 18-42 de ani.

Examenul general al ginecopatelor a început cu interviul standard, conform metodei de anchetare, unde au fost obținute date referitor la vârsta pacienților, antecedente personale (afecțiuni extragenitale și ginecologice), acuzele pacientelor și istoricul bolii.

Anamneza antecedentelor obstetricale - ginecologice a inclus vârsta menarhăi, durata stabilirii funcției menstruale, caracterul ciclului menstrual (durata, intervalul, cantitatea), debutul vieții sexuale, operații ginecologice suportate, timpul apariției SOP, durata sterilității, tipul sterilității, tratamentul administrat în vederea obținerii unei sarcini.

Vârsta de debut a menarhăi din start ne permit stabilirea grupului de paciente cu SOP sever și rezistent tratamentului atât terapeutic, cât și chirurgical.

Analizând anamneza privind sănătatea generală, ne-am referit la colectarea informației maladiilor referitor la aparatul cardiovascular, respirator, tulburări gastrointestinale, maladii neurologice ca traumatisme craniocerebrale în anamneză, endocrinopatii.

Studiul funcției reproductive a cuprins numărul de sarcini, nașteri, avorturi (spontane sau artificiale), durata infertilității și tipul acesteia - primară sau secundară.

Examenul obiectiv general a inclus aprecierea stării generale, tipului constituțional, IMC, semnelor de hiperandrogenie (scara Ferriman - Gallway), gradului de dezvoltare a glandelor mamare, circumferinței șoldurilor, circumferinței taliei și raportului dintre acestea.

Examenul ginecologic a inclus aprecierea dezvoltării organelor genitale, a uterului și anexelor. Prezența ovarelor mărite în dimensiuni la palpare, indolore de dimensiuni ovaloide, bine determinate.

Am studiat evoluția procesului de gestație la pacientele cu SOP, complicațiile acesteia, starea fătului, termenul de finisare a sarcinii și modalitatea finisării acesteia.

Diagnosticul de laborator al sindromului ovarelor polichistice

Diagnosticul sindromului ovarelor polichistice a fost stabilit în baza datelor clinice (semne de hiperandrogenie conform scării Ferriman-Gallaway), în baza datelor anamnestice, dar și a celor hormonale.

La toate pacientele incluse în studiu, diagnosticul SOP a fost confirmat prin depistarea în sânge a hormonilor cercetați, aplicând metoda de cercetare ECLIA. Metoda imunochimică cu detecție prin electrochemiluminiscență (ECLIA) este o metodă directă de apreciere a hormonilor LH, FSH, T, DHEAS, E, Progesteronului, prolactinei etc., este înalt specifică de 98% și cu sensibilitate de 99%. Această metodă de examinare a fost efectuată în Centrul Republican de Diagnostic și în laboratoarele medicale Synevo și SÂNTE.

Aprecierea hormonului AMH a fost efectuată serologic prin metoda imunoenzimatică (ELISA), stabilind și severitatea evoluției SOP. Pentru aprecierea AMH în studiu s-a utilizat tehnica imunoenzimatică cu truse de tip ELISA și constă în utilizarea Testului Wellcozyme recombinant, ce se bazează pe dozarea imunoenzimatică competitivă.

Serul se obține prin următoarea metodă: se colectează sânge venos în volum de 5 ml, fără anticuagulant, se separă prin centrifugare ser în care se determină concentrația AMH. Metoda dată de diagnosticare a fost efectuată în cadrul laboratorului Centrul Republican de Diagnostic.

Pacientele cu SOP CC - rezistente au fost spitalizate pentru a fi supuse tratamentului chirurgical laparoscopic, de asemenea au fost supuse examenului de laborator și instrumental (care au confirmat diagnosticul propriu-zis).

Aprecierea rezervei ovariene

Probele de sânge colectate de la pacientele cu SOP incluse în cadrul studiului nostru au fost supuse centrifugării, iar serul obținut a fost păstrat la temperatura de -20°C până la momentul investigației.

Starea rezervei ovariene a fost apreciată prin evaluarea valorii AMH în serul sanguin.

AMH reprezintă un marker ideal pentru estimarea rezervei ovariene.

AMH exercită un efect inhibitor atât asupra recrutării foliculilor primordiali, cât și asupra răspunsului foliculilor de creștere la hormonul foliculo-stimulant FSH. Modul în care se exercită controlul hormonal al secreției AMH este diferit. Studiile efectuate pe modele de animale și umane au arătat că în absența AMH

foliculii primordiali sunt recrutați cu o rată mai mare, astfel, cât rezerva acestora se epuizează prematur, iar ciclul menstrual se întrerupe la o vârstă mai tânără. AMH atenuază creșterea aromatazei FSH - dependente și exprimarea receptorului LH. Astfel, efectul inhibitor asupra sensibilității la FSH a foliculilor ar putea juca un rol în procesul de selecție.

Rolul AMH ca semnal periferic al mărimii rezervei de foliculi în creștere poate avea avantaje importante din punct de vedere clinic. La pacientele care urmează tratamente pentru infertilitate, îmbătrânirea ovariană se caracterizează printr-un răspuns scăzut la administrarea exogenă de gonadotropine și la o șansă redusă de a obține sarcina. Identificarea corectă a persoanelor care prezintă o rezervă ovariană redusă și astfel un răspuns slab la tratamentele de stimulare este importantă, pentru a evita ca acestea să fie incluse inutil în programele de fertilizare *in vitro*.

Pe lângă rolul său de marker al rezervei ovariene, nivelurile serice ale AMH pot fi importante și în patologia ovariană, respectiv, în sindromul ovarelor polichistice. Deși, acest sindrom cuprinde un spectru larg de manifestări clinice și caracteristici biochimice, o anomalie comună este reprezentată de perturbarea selecției foliculului dominant cu anovulație consecutivă. Acest mecanism de selecție deficitară conduce la acumularea de foliculi antrali mici, care contribuie semnificativ la producția de AMH. S-a formulat ipoteza că la pacientele cu sindrom al ovarelor polichistice activitatea aromatazei ar putea fi scăzută datorită faptului că foliculii nu produc suficient estradiol. AMH inhibă, de asemenea activitatea aromatazei, sugerând că acesta contribuie la severitatea acestui sindrom. Un procent semnificativ de paciente cu sindromul ovarelor polichistice prezintă obezitate, rezistență la insulina și hiperinsulinemie compensatorie. Nivelurile crescute de insulină sunt în parte responsabile de hiperandrogenismul asociat acestui sindrom.

Evaluarea rezervei ovariene prezintă importanță atât pentru clinicile de fertilizare *in vitro*, cât și pentru orice pacientă care se adresează specialistului în vederea evaluării potențialului de fertilitate.

Examenul de laborator pentru aprecierea rezervei ovariene a fost efectuat la internarea pacientelor cu SOP supuse tratamentului chirurgical laparoscopic și post-intervenție, la un interval de 3 zile. Investigațiile paraclinice instrumentale întru aprecierea diagnosticului de SOP, a fost utilizată metoda de evaluare instrumentală ultrasonografică. Totuși ținem să menționăm că acest diagnostic este o combinație dintre acuze și manifestări clinice și datele examenului instrumental.

Examinării USG au fost supuse toate pacientele la momentul spitalizării, în vederea aprecierii cu cer-

titudine a diagnosticului. Markerii ecografici cei mai importanți au servit volumul ovarian și numărul foliculilor, dar a fost apreciată și localizarea foliculilor (periferică sau centrală).

4. Metode de tratament aplicate în studiu

Laparoscopia diagnostică a fost efectuată în faza foliculară (a 8-a – 14-a zi), prin intermediul sistemului optic „Olympus” și a utilajului endoscopic *Karl Storz*. Locul introducerii primului trocar a fost stabilit punctul care unește linia albă a peretelui abdominal anterior cu regiunea inferioară a ombilicului, se efectuează o incizie de 2 cm. Se pătrunde cu trocarul perpendicular pe peretele abdominal anterior. După pătrunderea în cavitatea abdominală, din trocar se scoate mandrenul și se controlează dacă acesta, este într-adevăr, în cavitatea abdominală. Ulterior, se introduce laparoscopul conectat la camera video, iar pe trocar se aplică abducția de gaz, prin intermediul căreia se creează o presiune intraabdominală de 15 mmHg. În cadrul laparoscopiei chirurgicale s-a efectuat:

- examinarea cavității abdominale și a organelor intraabdominale, cu ajutorul palpatorului bont, dinspre medial spre lateral.

- S-a apreciat prezența sau lipsa patologiei organelor genitale.

- S-a recurs la: 1. *Hromosalpingografie* – pentru aprecierea permeabilității tubare și, excluderii sterilității de origine tubară, 2. *Diatermopunctura ovarelor*.

Tehnica efectuării Diatermopuncturii ovarelor:

1. S-au aplicat 40 W pentru o punctură timp de 2 - 3 secunde;

2. S-a evitat hilul ovarian pentru a limita sângerea; 3.5-6 puncturi ovariene;

3. Punctură bilaterală a ovarelor.

Prelucrarea statistică a rezultatelor obținute

Estimarea rezultatelor cercetării s-a efectuat în baza datelor generale obținute de la ginecopatele incluse în studiu, supuse metodei de anchetare, unde au fost obținute date referitor la vârsta pacientelor, antecedente personale (afecțiuni extragenitale și ginecologice), acuze și istoricul bolii.

Anamneză antecedentelor obstetrical-ginecologice a inclus vârsta menarhăi, durata stabilirii funcției menstruale, caracterul ciclului menstrual (durata, intervalul, cantitatea), debutul vieții sexuale, operații ginecologice suportate, timpul apariției SOP, durata sterilității, tipul sterilității (primară, secundară).

Rezultatele cercetărilor clinice, de laborator și instrumentale au fost incluse în fișele speciale ce conțineau criteriile de apreciere ale sindroamelor clinice și de laborator SOP. Probele de sânge colectate de la pacientele cu SOP incluse în cadrul studiului nostru au fost supuse centrifugării, iar serul obținut a fost

păstrat la temperatura de -20°C până la momentul investigației. Starea rezervei ovariene a fost apreciată prin evaluarea valorii AMH în serul sanguin. Întru aprecierea diagnosticului de SOP, a fost utilizată metoda de evaluare instrumentală ultrasonografică și cea hormonală. Examinării USG au fost supuse toate pacientele la momentul spitalizării, în vederea aprecierii cu certitudine a diagnosticului. Markerii ecografici cei mai importanți au servit volumul ovarian și numărul foliculilor, dar a fost apreciată și localizarea foliculilor (periferică sau centrală).

Volumul eșantionului și al loturilor studiate au fost determinate pe cale matematică.

În baza datelor primare au fost calculate: ratele, proporțiile și valorile medii. Pentru calcularea acestor indicatori va fi utilizată metoda epidemiologiei analitice.

Veridicitatea rezultatelor obținute va fi apreciată prin calcularea testului de semnificație (t-Student) și a pragului de semnificație (p).

Veridicitatea indicatorilor a fost determinată prin calcularea erorilor standard. Prelucrarea statistică ne-a permis calcularea ratelor, valorilor medii, indicatorilor de proporție.

Prelucrarea datelor a fost realizată utilizând programele Statistica 6,0 (Statsoft Inc), EXCEL și SPSS 16.0 (SPSS Inc) cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestor programe.

Pentru prezentarea datelor obținute au fost utilizate diferite tipuri de tabele, grafice și diagrame.

Rezultatele obținute în urma studiului complex finisat în cadrul tuturor compartimentelor programului de cercetare ne-a permis, să argumentăm științific noi metode de investigații și tratament a pacientelor cu *sindromul ovarelor polichistice* (SOP) în scopul depistării, tratării și aprobării unei conduite corecte.

Concluzii:

1. Studiul în cadrul tezei s-a efectuat în două etape: retrospectiv și prospectiv. În studiul retrospectiv s-a stabilit ca obiectiv studierea incidenței SOP, date despre anamneză obstetricală, ginecologică și somatică, durata sterilității, tratamentul administrat preoperator drillingului ovarian, evoluția postoperatorie, survenirea sarcinii, evoluția sarcinii și modalitatea finisării sarcinii.

2. Studiul prospectiv a avut drept scop aprecierea AMH preoperator și postoperator drillingului ovarian laparoscopic, particularitățile caracteristice la pacientele cu SOP, compararea eficacității metodei de tratament prin drilling ovarian laparoscopic raportat la valorile AMH.

3. Complexul diagnostic a inclus aplicarea următoarelor metode: clinice (culegerea datelor anamne-

stice, examenul obiectiv general și ginecologic), de laborator (analizele hormonale uzuale și AMH), paraclinice instrumentale (examenul USG).

4. Subiecții din studiu au fost selectați în mod aleatoriu, după criterii bine definite. Culegerea datelor a fost de tip-cuib. Durata culegerii datelor a fost longitudinal prospectivă. Toți subiecții au fost supravegheați în același mod, la aceleași intervale de timp până la încheierea studiului.

5. Criteriile de evaluare nu au fost schimbate de-a lungul anului. Pentru parametrii cantitativi cercetați au fost calculate mediile aritmetice (M), erorile mediei (m). Veridicitatea diferenței mediilor aritmetice (P) a fost comparată cu ajutorul criteriului Student (t).

Bibliografie

1. Tintiuc D., Grosu Iu., Grejdeanu T., ș.a. *Sănătate publică și Management*, Chișinău, 2007, 896 p.

2. Marcu M., *Sănătatea publică și management. Partea*

I, Metode și practici. Cluj-Napoca: Risoprint, 2000. 234 p.

3. Tulchinsky, H., Varavicova, E. *Noua Sănătate Publică*. Ulysse. Chișinău, 2003. 124-127 p.

4. Ețco, C. *Management în sistemul de sănătate*. Editura Epigraf. Chișinău, 2006. 636 p.

5. Muresan Petru - *Manual de metode matematice în analiza stării de sănătate*, Ed. Medicală, București, 1989, 234 p.

6. Enlchescu D., Marcu M.Gr. – *Sănătate publică și management sanitar*, Ed. All. Bucuresti, 1994, 186 p.

7. Havriliuc C.A., Vitcu Luminița - *Sănătate publică și management; Metode epidemiologice – curs*, U.M.F. Iași, 1995, 120 p.

8. Duda Rene Corneliu - *Sănătate publică și management*, U.M.F. Iași, 1996, 198 p.

9. Marcu Gr. M., Mincă Dana Galieta – *Sănătate Publică și Management Sanitar*. Editura Universitară „Carol Davilla”, București, 2003, 203 p.

10. Marcu Gr. M. – *Sănătate publică și management – Partea I. Metode și practici*; Editura Risoprint, Cluj-Napoca, 2000, 178 p.