



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

FACULTATEA DE MEDICINĂ

CATEDRA ENDOCRINOLOGIE

ROLUL MARKERILOR ENDOTELIALI ȘI AI INFLAMAȚIEI ÎN SINDROMUL OVARELOR POLICHISTICE

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Ileana DUNCEA

Doctorand:

Dr. Ioana Rada MĂNĂILĂ (ILIE)

2011

CUPRINS

INTRODUCERE

1. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	1
1.1 Definirea sindromului ovarelor micropolichistice-fenotipuri SOP	1
1.2 Boala cardiovasculară subclinică-injuria endotelială	5
1.3 Anomalii vasculare la femeile cu sindromul ovarelor polichistice	5
1.3.1 Disfuncția endotelială	7
A. Studii ale vasomotricității	8
B. Biomarkeri ai disfuncției endoteliale	12
1.3.2 Studii morfologice	13
1.4 Indici de inflamație cronică în SOP	15
1.5 Relația dintre disfuncția endotelială, inflamația cronică și rezistența la insulină în SOP	19
1.6 Relația obezitate- disfuncție endotelială și inflamație cronică	22
1.7 Rolul hiperandrogenemiei în disfuncția endotelială și inflamația cronică din SOP	23
1.8 Considerații privind terapia în SOP	26
1.9 Concluzii	29
2. CONTRIBUȚII PERSONALE	30
2.1 Injuria endotelială și inflamația cronică în SOP-relația cu unii parametri antropometrici, metabolici și hormonal	30
2.1.1 Ipoteză de lucru	30
2.1.2 Materiale și metode	30
2.1.3 Rezultate	36
2.1.3.1 Caracteristicile bazale ale lotului SOP și control	36
2.1.3.2 Profilul hemodinamic și relația cu hiperandrogenemia, compoziția corporală și indicii de rezistență la insulină	40
2.1.3.2.1 Endotelina-1	40
2.1.3.2.2 Dilatația mediată de flux	44
2.1.3.2.3 Oxidul nitric	49
2.1.3.2.4 GIM carotidiană	51

2.1.3.3 Markerii inflamatori și relația acestora cu hiperandrogenemia, compoziția corporală și indicii de rezistență la insulină	52
2.1.4 Discuții	61
2.1.5 Concluzii	75
2.2 Efectele terapiei combinate metformin-DRP/EE30μg în asociere sau nu cu scăderea ponderală asupra injuriei endoteliale și inflamației cronice la femei tinere obeze și non-obeze cu SOP	77
2.2.1 Ipoteză de lucru	77
2.2.2 Materiale și metode	78
2.2.3 Rezultate	80
2.2.3.1 Prezentare date generale inițiale paciente SOP	80
2.2.3.2 Efectele intervenției medicale la 6 luni de la inițiere în lotul SOP total	83
2.2.3.2.1 Efectele tratamentului și scăderii ponderale asupra parametrilor antropometrici, insulinorezistenței, profilului lipidic, compoziției corporale, hiperandrogenismului clinic și biochimic	85
2.2.3.2.2 Efectele tratamentului și dietei hipocalorice asupra funcției și structurii endoteliale și a nivelelor hsPCR	88
2.2.3.3 Efectele intervenției terapeutice în funcție de indicele de masă corporală	89
2.2.3.4 Efectele intervenției terapeutice în funcție de statusul fumător	95
2.2.3.5 Efectele intervenției terapeutice după ajustarea pentru o scădere ponderală >5%, respectiv >10% în lotul SOP global	97
2.2.4 Discuții	99
2.2.5 Concluzii	114
2.3. CONCLUZII GENERALE	116
BIBLIOGRAFIE	120

Cuvinte cheie: sindromul ovarelor polichistice, injurie endotelială, inflamație cronică, drospirenona/etinil-estradiol, metformin

1. Stadiul actual al cunoașterii

Sindromul ovarelor micropolichistice (SOP) este o afecțiune heterogenă ce afectează până la 6-10% din femeile aflate la vârsta reproductivă [Cussons și colab., *Atherosclerosis*, 2006, Azziz și colab. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004], caracterizat prin hiperandrogenism clinic și/sau biochimic, acompaniat frecvent de disfuncție ovulatorie, obezitate și ovare polichistice [Azziz și colab., *Humana Press*, 2006, Blank și colab., *Ann N Y Acad Sci*, 2008]. SOP este considerat nu doar o endocrinopatie, ce afectează reproducerea, ci și o disfuncție metabolică. Deși controversate încă există, majoritatea studiilor sugerează un risc cardiovascular crescut și o prevalență crescută a bolii cardiovasculare subclinice, caracterizată prin afectarea structurii și funcției arteriale și cardiace [Shaw și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, Talbott și colab., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000], disfuncție endotelială, anomalii ale profilului lipidic și un grad cronic de inflamație în rândul femeilor cu SOP [Tarkun și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, Orzio și colab. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, Kelly și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2001]. Dovezile de până acum relevă că insulinorezistența și obezitatea ar fi principalii mediatori ai disfuncției endoteliale precoce, aterosclerozei carotidiene și coronariene și inflamației cronice. Încă insuficient clarificat intr-adevăr, dar e posibilă și implicarea excesului androgenic în inducerea leziunilor endoteliale [Kravariti și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, Tarkun și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2004]. Modificarea stilului de viață, dieta și scăderea în greutate sunt esențiale pentru prevenirea bolii cardiovasculare și DZ tip 2 în cazul femeilor supraponderale și obeze cu SOP. Pe lângă acestea, și în afara strategiilor terapeutice direcționate către restaurarea fertilității, terapia curentă farmacologică a acestei afecțiuni se bazează în principal pe două categorii de medicamente: contraceptivele orale (CO) și agenții sensibilizatori la insulina. Chiar și fără prezența statusului SOP, posibilele efecte adverse metabolice și cardiovasculare pe termen lung ale CO constituie o problemă îngrijorătoare. Pe de altă parte, câteva studii au raportat printre altele, o îmbunătățire a structurii și funcției endoteliale [Diamanti-Kandarakis și colab., *Eur J Endocrinol*, 2005, Diamanti-Kandarakis și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, Orzio și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2005], precum și o descreștere a nivelelor hsPCR [Morin-Papunen și colab., *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, Diamanti-Kandarakis și colab., *Hum Reprod*, 2006, Teede și colab., *Fertil Steril*] după 6 luni de tratament cu metformin. Prin prisma celor prezentate, folosirea în SOP a asocierii dintre un CO conținând un progestativ cu activitate androgenică mai mică/antiandrogenică, cum ar fi drospirenona (DRP) și a unui agent care crește sensibilitatea la insulină, în ideea contracarării potențialelor efecte negative ale CO asupra markerilor cardiovasculari pare foarte logică. Oricum, până în prezent, nu există date disponibile privind efectul asocierii CO-DRP/EE_{30μg} +metformin ± scădere ponderală asupra acestor markeri de risc cardiovascular în SOP.

2. Contribuțiile proprii

2.1 Injuria endotelială și inflamația cronică în SOP-relația cu unii parametri antropometrici, metabolici și hormonal

Ipoteza de lucru: scopul primei părți a acestei cercetări a fost investigarea prezenței inflamației cronice, disfuncției endoteliale și a markerilor morfologici de boală cardiovasculară subclinică, precum și a relației acestora cu alterările hormonale și metabolice caracteristice SOP-ului într-o populație de femei tinere cu această afecțiune. De asemenea, s-a încercat stabilirea parametrilor endocrini și/sau metabolici care ar prezice independent un risc cardiovascular crescut în SOP. În România nu există studii care să fi evaluat în aceeași cercetare toți acești markeri surogat ai aterosclerozei precoce la paciente cu SOP. Astfel, prin rezultatele primului capitol din contribuțiile personale, cercetarea aduce contribuții originale pentru țara noastră, reprezentând o premieră în acest sens.

Materiale si metode: 54 de femei diagnosticate cu SOP, conform criteriilor propuse de Societatea de Exces Androgenic 2006 și 36 de femei sănătoase, similare ca vârsta și indice de masă corporală (IMC) alese ca martori au fost evaluate prospectiv în Clinica Endocrinologie, Cluj-Napoca. Toate au fost evaluate complet clinic (scor Ferriman-Gallewey (F-G), IMC, raport talie-șold (ITS), stabilirea statusului fumator, tensiune arterială sistolică și diastolică) și biochimic în cursul fazei foliculare precoce (zilele 2-5 ale unui ciclu menstrual spontan sau indus de progestative). Utilizând kituri comerciale imunosorbent, având la bază reacții enzimatic, furnizate de firma DRG Instruments, Marburg, Germany s-au dozat: insulina (INS, $\mu\text{U/ml}$), testosteronul total (TT, ng/ml), estradiolul (E_2 , pg/ml), proteina de legare a hormonilor sexuali (SHBG, nmol/l), endotelina-1 (ET-1, pg/ml), hsPCR (mg/l), $\text{TNF-}\alpha$ (pg/ml). De asemenea s-au determinat glicemia, colesterolul total (CT) și trigliceridele (TG) serice. S-au calculat indexul androgenic liber (FAI) și indicii de rezistență la insulină: HOMA-IR și QUICKI. Totodată, s-a măsurat NO prin determinarea simultană a nitratului (NO_3^-) și nitritului (NO_2^-) cu ajutorul nitratreductazei NADPH, metodă inițial descrisă de Wu și Brosnan, ce se bazează pe reducerea nitratului la nitrit utilizând NADPH și măsurarea nitritului total format cu reactivul Griess. Grosimea intimă-medie carotidiană (GIMC) și dilatația mediată de flux (DMF) la nivelul arterei brahiale au fost determinate de același cardiolog, utilizând un ultrasonograf Doppler color de înaltă rezoluție (AGILENT SONOS 4500) cu transductor liniar de 10 MHz, iar compoziția corporală a fost determinată cu ajutorul absorptiometriei duale cu raze-X (DXA), folosind un echipament DPX-NT (GE, Madison, USA).

Rezultate: După cum era de așteptat, TT și FAI ($p < 0,001$) au fost semnificativ mai mari, iar SHBG-ul ($p = 0,009$) semnificativ mai mic în SOP comparativ cu grupul de control. În schimb, nu s-au observat diferențe semnificative statistic între cele două loturi, în ceea ce privește parametrii compoziției

corporale-masa grasă totală și tronculară, masa non-grasă, concentrațiile serice ale glicemiei și insulinei bazale și indicii de rezistență și sensibilitate la insulină. Concentrațiile serice ale ET-1 au fost semnificativ mai mari ($p=0,002$) în timp ce DMF a fost semnificativ mai mică ($p=0,001$) în SOP vs control. Nu a existat o diferență între cele două loturi în ceea ce privește GIMC, concentrațiile NO, TAS și TAD și concentrațiile serice ale markerilor proinflamatori TNF- α și hsPCR.

În întreaga populație studiată ($n=90$), nivelele ET-1 s-au corelat negativ cu nivelele SHBG ($r=-0,222$, $p=0,035$) și pozitiv cu concentrațiile TT, FAI ($p<0,001$), IMC ($r=0,215$, $p=0,041$). O descoperire interesantă o reprezintă rezultatele regresiei liniare univariate- ET-1 (variabilă dependentă) și status SOP, TT, respectiv FAI, care au arătat că doar statusul SOP a fost un predictor semnificativ al nivelelor ET-1 ($p=0,044$), în timp ce FAI a constituit un predictor doar aproape de limita semnificației statistice. Aceeași relație ET-1-hiperandrogenemie a fost descrisă și evaluând separat femeile cu SOP și femeile sănătoase: în cadrul lotului SOP nivelele ET-1 s-au corelat semnificativ doar cu TT ($r=0,310$, $p=0,023$), în timp ce în lotul control acestea s-au corelat semnificativ cu TT, FAI, SHBG, IMC și ITȘ ($p<0,05$) și borderline cu nivelele hsPCR ($r=0,308$, $p=0,068$).

În ceea ce privește DMF%, aceasta s-a corelat în grupul total (SOP + control) negativ și semnificativ cu IMC ($r=-0,252$, $p=0,022$), ITȘ, insulina ($r=-0,241$, $p=0,03$) și FAI ($-0,265$, $p=0,016$). Corelații negative, însă doar marginale, au fost de asemenea observate între DMF și nivelul TG serice, ET-1 și HOMA-IR, QUICKI, TT, hsPCR. Considerând separat subiecții SOP și martor, nu s-a observat nicio corelație semnificativă între DMF și parametrii studiați în lotul SOP. Analiza de regresie multiplă aplicată pentru întreaga populație a arătat că prezența statusului SOP a constituit un predictor semnificativ al DMF%, independent de oricare din variabilele introduse în modele. De asemenea insulina ($p=0,049$), respectiv hsPCR ($p=0,048$) au fost, în modele separate, predictori semnificativi ai DMF%, independent de statusul SOP, însă adăugarea IMC-ului a eliminat practic asocierea dintre INS-DMF% ($p=0,206$) și a adus relația PCR-DMF% la limita semnificației statistice ($p=0,059$).

În ceea ce privește evaluarea influenței obezității asupra inflamației cronice, concentrațiile serice ale hsPCR, dar nu și ale TNF- α , au fost semnificativ mai mari în subgrupurile de pacienți supraponderali și obezi ($BMI>25\text{kg/m}^2$), comparativ cu subgrupurile de nonobezi ($BMI\leq 25\text{ kg/m}^2$), indiferent de prezența statusului SOP ($P<0,001$), dar nu s-a observat nicio diferență în ceea ce privește nivelele celor doi markeri inflamatori, atunci când pacientele SOP au fost comparate cu subploturile martor, similare ca IMC. HsPCR s-a corelat semnificativ cu parametrii obezității și rezistenței la insulină: IMC, masa grasă totală, masa grasă tronculară ($p<0,001$), insulina, indicii HOMA-IR și QUICKI și SHBG ($p<0,05$) atât în lotul SOP, cât și în grupul total. În analiza multivariată s-a observat că IMC-ul și CT au constituit predictori

independenți ai hsPCR în lotul SOP iar includerea în modele a țesutului adipos total a atenuat cel mai mult efectul IMC-ului asupra hsPCR (de la 42% la 11,78%), sugerând că cel puțin în parte, asocierea IMC-hsPCR s-ar explica prin masa grasă totală.

Concluzii: Aceste rezultate demonstrează că femeile tinere, normoglicemice, non-dislipidemice, normotensive cu SOP prezintă alterarea funcției endoteliale documentată atât printr-o reactivitate vasculară alterată, cât și prin nivele crescute ale ET-1, dar nu și îngroșarea GIMC sugerând o afectare funcțională vasculară preaterosclerotică timpurie. Mai mult decât atât, SOP nu se asociază cu inflamație cronică *per se*, concentrațiile hsPCR fiind în relație practic doar cu obezitatea și alterările metabolice. Având în vedere valoarea predictivă a statusului SOP evidențiată prin analiza de regresie atât asupra DMF% cât și a ET-1, propunem considerarea statusului SOP un marker predictiv al riscului cardiovascular alături de alți binecunoscuți factori, precum rezistența la insulina, hsPCR, obezitatea etc., Sunt necesare totodată mai multe cercetări, care să se desfășoare pe perioade îndelungate pentru a se determina semnificația acestei afectări endoteliale subclinice timpurii descrisă în rândul femeilor cu SOP. Mai mult decât atât, relația observată în întreaga populație între indicii de disfuncție endotelială pe de o parte și nivelele hormonilor androgeni, respectiv nivelele hsPCR, pe de altă parte sugerează că hiperandrogenemia și inflamația cronică ar fi implicate, alături de rezistența la insulină și probabil alți factori, în apariția leziunilor endoteliale. Cu alte cuvinte, prezența bolii ovarelor micropolichistice și excesul androgenic ce caracterizează aceasta afecțiune presupun un risc cardiovascular crescut în SOP, în sensul asocierii acestora cu disfuncția endotelială, la care dacă se asociază alterări metabolice precum obezitatea și hipercolesterolemia, riscul aterogen s-ar agrava suplimentar prin promovarea de către acești factori a inflamației cronice.

2.2. Efectele terapiei combinate metformin-DRP/EE30μg în asociere sau nu cu scăderea ponderală asupra injuriei endoteliale și inflamației cronice la femei tinere obeze și non-obeze cu SOP

Ipoteza de lucru: Cea de-a doua parte a cercetării a avut ca scop evaluarea efectului CO conținând 30 μg EE+ DRP-3mg (DRP/EE_{30μg}) în asociere cu metforminul ± dieta hipocalorică/scăderea în greutate asupra markerilor de disfuncție endotelială, GIMC, indicilor de inflamație cronică, metabolismului carbohidrat și insulinoresistenței, profilului lipidic, considerați cu toții predictorii valoroși ai bolii cardiovasculare subclinice, la femei obeze și non-obeze cu SOP.

Materiale și metode: La 47 din cei 54 de subiecți SOP, evaluați în prima parte a cercetării s-a inițiat tratament cu contraceptivul monofazic- DRP/EE_{30μg} și metformin 2x850mg/zi. Totodată, pacientelor supraponderale și obeze cu SOP li s-a recomandat scădere în greutate, în timp ce celor normoponderale li s-a menționat să-și păstreze greutatea sau, dacă doresc, să scadă în greutate. Cei 25 subiecți SOP care au

respectat indicațiile terapeutice au fost reevaluați complet după 24 săptămâni de tratament prin aceleași măsurători antropometrice, determinări hormonale, metabolice, DXA și studii cardiovasculare, similar evaluării bazale, excepție determinarea TNF- α care, din motive financiare a lipsit din evaluarea la 6 luni.

Rezultate IMC-ul ($p < 0,001$), țesutul adipos total % ($p = 0,018$) și masa slabă (kg) ($p = 0,009$) au scăzut semnificativ în lotul SOP în urma tratamentului medicamentos și a dietei, în timp ce ITȘ și țesutul adipos troncular s-au modificat doar borderline. În ceea ce privește rezistența la insulină, atât insulinemia bazală cât și HOMA-IR sau QUICKI s-au îmbunătățit semnificativ de-a lungul perioadei de urmărire ($p \leq 0,001$), în timp ce concentrațiile serice ale CT ($p = 0,005$) și TG ($p = 0,04$) au crescut semnificativ. Așa cum era de așteptat, scorul F-G ($p = 0,02$), TT ($p = 0,007$) și FAI au scăzut iar SHBG-ul ($p < 0,001$) a crescut în urma intervenției aplicate. Deși fără a atinge semnificație statistică, asocierea tratamentului combinat metformin +CO cu scăderea ponderală s-a asociat cu un trend crescător în ceea ce privește valorile DMF în SOP ($p = 0,101$), în timp ce concentrațiile ET-1 au scăzut, dar nu semnificativ, iar NO și hsPCR nu s-au modificat de-a lungul studiului. Dimpotrivă, o creștere semnificativă s-a constatat în cazul GIMC ($p = 0,003$). Considerând separat pacientele SOP nonobeze și obeze, doar următorii parametri au înregistrat o îmbunătățire semnificativă după 6 luni de tratament asociat cu dieta hipocalorică raportat la valorile bazale în sublotul de paciente obeze și supraponderale: IMC-ul ($p = 0,001$), FAI ($p = 0,011$), TT ($p = 0,009$), scorul F-G ($p = 0,007$), insulinemia, HOMA-IR și QUICKI ($p \leq 0,003$), țesutul adipos total (%) ($p = 0,016$), și masa slabă ($p = 0,006$). Dimpotrivă, atât concentrațiile TG serice ($p = 0,004$) cât și GIMC ($p = 0,007$) au crescut semnificativ, în timp ce s-a observat o creștere cu semnificație statistică borderline în ceea ce privește nivelele CT. Dimpotrivă, referitor la subgrupul nonobez, se observă că doar FAI, scorul F-G, și concentrațiile SHBG au demonstrat modificări semnificative și favorabile de-a lungul studiului ($p < 0,05$). O creștere semnificativă am observat în cazul CT ($p = 0,047$) și una aproape de limita semnificației statistice s-a remarcat, de asemenea, în cazul indicelui QUICKI. Cu privire la statusul fumător, glicemia, ambii indici de rezistență la insulină, concentrațiile SHBG și FAI ($p \leq 0,021$) s-au îmbunătățit semnificativ în rândul nefumătorilor pe perioada studiului și nu au prezentat nicio modificare sau doar modificări borderline către un status mai bun în rândul pacientelor SOP fumătoare.

Grupul de paciente SOP a pierdut 6,61% din greutatea inițială, în timp ce analizate separat, femeile din subgrupul obez au scăzut în greutate în urma tratamentului indicat și a regimului urmat 8,78%, iar subgrupul nonobez a demonstrat o scădere ponderală de 2,1%. Având în vedere relația dintre obezitate și unii parametri și posibilul impact favorabil al scăderii ponderale asupra lor și dorind totodată să evaluăm influența tratamentului instituit asupra factorilor de risc cardiovasculari, s-au făcut ajustări pentru scăderea în greutate, luând ca prag o scădere ponderală de 5%, respectiv 10%. S-a constatat că și după o ajustare pentru o scădere cu $>5\%$ și respectiv $>10\%$ a IMC-ului au existat diferențe semnificative statistic

în ceea ce privește valorile inițiale ale acestuia, valorile inițiale ale FAI, TT, țesutului gras total %, SHBG ($p < 0.05$) și valorile lor de la 6 luni, în timp ce pentru masa slabă (kg) ($p = 0,016$), HOMA-IR ($p = 0,014$), QUICKI ($p = 0,026$), insulinemie ($p = 0,016$) și țesutul adipos troncular % ($p = 0,033$) diferențele semnificative pretratament versus posttratament au persistat doar în cazul ajustării pentru 5%. Creșterea nefavorabilă a GIMC max și a TG serice observată la 6 luni de la intrarea în studiu a rămas de asemenea semnificativă ($p = 0,008$, respectiv $p = 0,012$), și după ajustarea de $> 5\%$.

Concluzii: Din câte știm, aceasta este primul studiu care a evaluat efectul metforminului în asocieră cu CO cu efecte antiandrogenice DRP/EE_{30μg} și scăderea ponderală asupra unor markeri de disfuncție endotelială și alterare structurală, hsPCR, compoziției corporale, metabolismului lipidic și carbohidrat la femeii obeze și nonobeze cu SOP. Rezultatele cercetării de față sugerează un efect disociat al intervenției medicale constând în medicația metformin- DRP/EE_{30μg} ± scăderea ponderală moderată asupra factorilor de risc cardiovasculari, cu un impact pozitiv asupra hiperandrogenismului clinic și biochimic, metabolismului carbohidrat și compoziției corporale, un ușor efect pozitiv/ neutru asupra markerilor de disfuncție endotelială: DMF %, concentrațiile NO și ale ET-1 și a celor inflamatori, însă fără efecte benefice asupra markerilor de alterare structurală și a profilului lipidic atât în lotul SOP global, cât și în subgrupul SOP obez. Dimpotrivă, s-a observat progresia GIMC de-a lungul perioadei de urmărire. În subplotul non-obeze nu s-au observat modificări semnificative ale funcției endoteliale, GIMC, nivelelor hsPCR sau ale altor variabile cu excepția ameliorării hiperandrogenismului și discret a sensibilității la insulină la 6 luni de la înrolare, efecte ce pot fi atribuite per ansamblu doar combinației de medicamente utilizate. Cel puțin, se poate trage concluzia că administrarea de metformin+DRP/EE_{30μg} pacienților SOP non-obeze nu prezintă riscuri, în condițiile în care nu s-au observat deteriorări suplimentare ale nici unui factor de risc cardiovascular în rândul acestor femei. Deși studiul de față este limitat de absența unui grup control fără scădere ponderală, rezultatele obținute în lotul SOP total, după ajustarea pentru o scădere în greutate $> 5\%$ și respectiv $> 10\%$ sugerează că tratamentul medicamentos folosit de paciente ar exercita efecte neutre/ușor pozitive asupra funcției endoteliale și nivelelor PCR sau cel puțin nu contracarează efectele scăderii ponderale rezultată din schimbarea stilului de viață asupra DMF, dar ar avea în schimb efecte nocive asupra structurii arteriale și trigliceridelor serice. Statusul fumător a împiedicat realizarea unor efecte benefice asupra unor parametri ai metabolismului gluco-insulinemic și markeri de hiperandrogenemie, subliniind încă o dată efectele nocive ale fumatului și necesitatea încurajării stopării acestui obicei nedorit.

Curriculum vitae

Informații personale

Nume / Prenume

ILIE IOANA RADA

Adresă

Aleea Moldoveanu, nr. 12, apartament 18, Cluj Napoca, Romania

Telefon

0742699737

E-mail

ioanamanaila@yahoo.com

Naționalitate

Română

Data și locul nașterii

29.11.1977, SIGHETU MARMAȚIEI

Stare civilă

Căsătorită

Experiența profesională

Perioada

2007 - prezent

Funcția sau postul ocupat

Asistent universitar

Numele și adresa angajatorului

Catedra Endocrinologie, Facultatea de Medicină Generală, Universitate de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Activități științifice

a. LUCRARI ELABORATE SI/SAU PUBLICATE

- Ghibu S, **Ilie IR**: "Perspectives in the experimental study of the metabolic syndrome", Farmacia, No 4, 2011
- Pepene CE, **Ilie IR**, Marian I, Duncea I: "Circulating osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa β ligand in polycystic ovary syndrome: relationships to insulin resistance and endothelial dysfunction", European Journal of Endocrinology, 2011, vol 164, 61-68
- **Ilie IR**, Pepene CE, Marian I, Mocan T, Hazi G, Drăgotoiu G, Ilie R, Mocan L and Duncea I: "The polycystic ovary syndrome (PCOS) status and cardiovascular risk in young women", Central European Journal of Medicine, 2011, vol 6, 64-75, DOI:10.2478/s11536-010-0054-1
- Mocan T, Clichici S, Agoșton-Coldea L, Mocan L, Șimon Ș, **Ilie IR**, Biriș AR, Mureșan A: "Implications of oxidative stress mechanisms in toxicity of nanoparticles", Acta Physiologica Hungarica, vol 97(3), 247-255, septembrie 2010
- Iancu C, **Ilie IR**, Georgescu CE, Ilie R, Biriș AR, Mocan T, Mocan L, Zaharie F, Todea-Iancu D, Susman S, Rus Ciuca D, Biriș AS „Applications of Nanomaterials in Cell Stem Therapies and the Onset of Nanomedicine”, "Particulate Science and Technology", 27: 6, 562 — 574, noiembrie 2009
- Pepene C, **Ilie IR**, Seceleanu A, Gherghel D, Duncea I: "Co-existence of euthyroid Graves ophthalmopathy and isolated ocular myasthenia in a patient with vitiligo: a challenging diagnosis of auto-immune polyglandular syndrome-3C", Neuro-Ophthalmology, vol 33 (5), 268-272, october, 2009

- Pepene CE, **Ilie IR**, Mihiu D, Stan H, Albu S, Duncea I: "Pituitary abcess followed by empty sella syndrome in an adolescent girl", Pituitary, vol 13 (4), 385-389, 2010
- Georgescu C, **Ilie IR**, Paul A, Mihiu D, Duncea I, Mocan T, Duncea I: "Value of quantitative heel and proximal phalanges ultrasonograph versus dual X-ray absorptiometry in women aged 24-80 years", Acta Endocrinologica (Buc), vol IV (3) 297-308, 2008
- **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Ilie R: "Vascular abnormalities and low-grade chronic inflammation in women with polycystic ovary syndrome: relationships with insulin resistance, obesity and hyperandrogenemia", Central European Journal of Medicine, vol 3(3), 257-270, septembrie, 2008

b. **PREMII**

- Premiu I pentru lucrarea "Sistemul osteoprotegerinei (OPG)/ligandul solubil al receptorului activator al factorului nuclear kappa β (sRANK) in sindromul ovarelor polichistice (SOP), Zilele UMF 2010, sesiunea postere; Autori: Georgescu C, **Ilie IR**, Marian I, Brad C, Hazi G, Dragatoiu G, Duncea I
- Premiul " C.I. Parhon" pentru lucrarea "Alterarea functiei endoteliale la femeile tinere cu sindromul ovarelor micropolichistice", Al V-lea Congres al Asociatiei de Endocrinologie Clinica din Romania, 1-4 septembrie, Galati-Braila, 2010; Autori: **Ilie IR**, Georgescu C, Zdrehus A, Marian I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Ilie R, Duncea
- Premiu – in calitate de coautor al lucrarii "Co-existence of euthyroid Graves ophthalmopathy and isolated ocular myasthenia in a patient with vitiligo: a challenging diagnosis of auto-immune polyglandular syndrome-3C", Pepene C, **Ilie IR**, Seceleanu A, Gherghel D, Duncea I, Neuro-Ophthalmology, vol 33 (5), 268-272, october, 2009 la programul Premiera rezultatelor cercetarii, Etapa II 2009 (COD CNCSIS 1910)
- Premiu –in calitate de coautor al lucrarii „ Applications of Nanomaterials in Cell Stem Therapies and the Onset of Nanomedicine”, Iancu C, **Ilie IR**, Georgescu CE, Ilie R, Biris AR, Mocan T, Mocan L, Zaharie F, Todea-Iancu D, Susman S, Rus Ciuca D, Biris AS "Particulate Science and Technology", 27: 6, 562 — 574; noiembrie 2009, la programul Premiera rezultatelor cercetarii, Etapa III 2009 (COD CNCSIS 526)
- Premiul "Eugenia Marcela Pitis" pentru lucrarea "Sindromul metabolic si riscul cardiovascular in sindromul ovarelor micropolichistice", Al III-lea Congres al Asociatiei de Endocrinologie Clinica din Romania, 25-27 septembrie, Cluj-Napoca, 2008; Autori: **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Fiscutean O, Moldovan M
- Premiul "Rodica Dascalu" pentru lucrarea "Predispozitia genetica spre bolile tiroidiene autoimune determinata de polimorfismul genei CTLA4 ", Al IV-lea Congres al Asociatiei de Endocrinologie Clinica din Romania, 2-5 septembrie, Constanta, 2009; Autori: Crişan L, Popp R, Georgescu C, **Ilie IR**, Paul A, Crisan T, Brad C, Duncea I
- Premiu –in calitate de coautor al lucrarii "Value of quantitative heel and proximal phalanges ultrasonograph versus dual X-ray absorptiometry in women aged 24-80 years", Georgescu C, **Ilie IR**, Paul A, Mihiu D, Duncea I, Mocan T, Duncea I, Acta Endocrinologica (Buc), vol IV, no.3, pp 297-308, 2008 ", Premiera rezultatelor cercetarii, competitia noiembrie 2008 (COD CNCSIS 172)

- Premiu –in calitate de autor al lucrarii “Vascular abnormalities and low-grade chronic inflammation in women with polycystic ovary syndrome: relationships with insulin resistance, obesity and hyperandrogenemia”, **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Ilie R, Central European Journal of Medicine, vol 3(3), pp 257-270, septembrie, 2008” la programul Premiarea rezultatelor cercetarii, competitia noiembrie 2008 (COD CNCSIS 171)
- Premiu mentiune pentru lucrari stiintifice-la sectiunea stiintifica de postere, sectiunea discipline medicale pentru lucrarea: “Studiu comparativ intre ultrasonografia falangei proximale si absorbtimetria cu raze X in stabilirea riscului de fracturi osteoporotice la femei”, 3-7 decembrie, Cluj-Napoca, 2007; Autori: Georgescu C, **Ilie IR**, Duncea I
- Premiu pentru lucrari stiintifice ale cadrelor didactice la sectiunea stiintifica de postere, sectiunea discipline medicale pentru lucrarea: “Modificari ale compozitiei corporale si densitatii minerale osoase la femei in postmenopauza: relatia cu unii parametri clinici si metabolici”, Zilele U.M.F. Iuliu Hatieganu”, 2-5 decembrie, Cluj-Napoca, 2003; Autori: Georgescu C, Duncea I, Naumescu S, Filip I, Pop G, **Manaila (Ilie) IR**

c. PARTICIPAREA IN PROGRAME NATIONALE DE CERCETARE IN CALITATE DE MEMBRU

- Grant CNCSIS tip A cod 552 cu tema „ Sistemul osteoprotegerina/ligandul receptorului activator al NF-kappaB in determinismul densitatii osoase si compozitie corporale si relatia cu hormoni sistemici, adipocitokine si markeri endoteliali”, 2007-2008
- Grant PNCDI–contract de finantare 41_068/2007 cu tema “Cercetari clinice si experimentale privind poluantii organici persistenti cu functie de disruptori endocrini in medii biologice umane si animale si implicarea in determinismul insulinorezistentei/sindromului metabolic”, 2007-2013
- Grant PNCDI-41-009 cu tema “Terapia tintita moleculara a neoplasmului pancreatic prin excitarea optica rezonanta LASER a nanotuburilor de carbon functionalizate chimic si internalizate celular. NANOPAN”, 2007-2013
- PNCDI-42-115-Nanoterapia fototermică selectivă a hepatocarcinomului prin internalizare intracelulară și mecanism de activare Laser a nanotuburilor de carbon bio-ligand funcționalizate.NANOHEP, 2008-
- PNCDI-42-111- Profilaxia cancerului colo-rectal prin generarea, testarea și modularea vaccinelor pe bază de cellule stem nediferențiate.VACSTEM, 2008-

d. PARTICIPARE STUDII CLINICE

- Studiu multicentric cu tema „Evaluarea incidentei fracturilor vertebrale sub tratament cu basedoxifen la femei cu osteoporoza de postmenopauza”, 2005-2008
- Studiu clinic comparativ al absorbtimetriei duale cu raze X si ultrasonografiei de falanga in estimarea riscului de fractura– Contract de cercetare international, 2006-2007

e. PARTICIPARI LA CONGRESE NATIONALE SI INTERNATIONALE (CELE MAI RELEVANTE LUCRARI, EXCEPTIE CELE PREMIATE, AMINTITE MAI SUS)

- Ilie I, Georgescu C, Marian I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Ilie R, Brad C, Zdrehus A, Fiscuteanu O, Duncea I: “Boala ovarelor micropolichistice se asociaza cu disfunctie endoteliala”, Zilele UMF Iuliu Hatieganu, 24-27 noiembrie, 2009
- Ilie I, Georgescu C, Duncea I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Man B, Ilie R, Zdrehus A: ”Exista inflamatie cronica in sindromul ovarelor micropolichistice?”, Congresul National de Endocrinologie cu Participare Internationala Editia a XVII-a, Sinaia, 29-31, Octombrie, 2009, volum rezumate pp 42
- Georgescu C, **Ilie IR**, Marian I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Brad C, Man B, Duncea I: “Riscul cardiometabolic in boala ovarelor micropolichistice-controverse actuale si implicatii terapeutice”, Congresul National de Endocrinologie cu Participare Internationala Editia a XVII-a, Sinaia, 29-31, Octombrie, 2009, volum rezumate pp 21
- **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Hazi G, Dragatoiu G, Man B, Mocan T, Ilie R, Fiscuteanu O: „Markeri inflamatori in sindromul ovarelor micropolichistice - relatia cu unii parametrii metabolici, hormonali, antropometrici”, Al IV-lea Congres al Asociatiei de Endocrinologie Clinica din Romania, 2- 5 Septembrie, 2009, Constanta
- Georgescu C, **Ilie IR**, Brad C, Duncea I, Paul A, Duncea I: “Influence of age, menopause and body composition on bone mineral density in non-obese healthy Romanian subjects”, 11th European Congress of Endocrinology, 25-29 April, 2009, Istanbul, Turkey, Endocrine Abstracts (2009) vol 20, p248
- Georgescu C, **Manaila (Ilie) IR**, Duncea I: “Relationships between body composition, peak bone mass and life-style factors in healthy young Romanian adults”, 17th Scientific Meeting of the International Bone and Mineral Society (IBMS), Montreal, 24-27 June 2007.
- Georgescu C, Duncea I, Pop G, Chiorean D, **Manaila (Ilie) IR**, Paul A: “Ultrasonoosteodensitometria cantitativa (QUS) versus absorbtimetria duala cu raze X (DXA) in aprecierea riscului de fracturi osteoporotice-studiu clinic”, Congresul National de Endocrinologie, Sibiu, 24-26 octombrie, 2006.
- Georgescu C, **Ilie IR**, Duncea I: “Evaluarea compozitiei corporale prin absorptiometrie duala cu raze-X: efectele varstei, menopauzei si modului de viata” (Evaluation de la composition corporelle par dual X-ray absorptiometry: effects de l’age, de la menopause et du mode de vie”), Al 14-lea Simpozion Francofon, 14-16 mai, Iasi, 2008
- Georgescu C, Naumescu S, **Mănăilă (Ilie) IR**, Duncea I: “Relationships between fat mass, lean mass and bone mineral density in healthy eugonadal romanian women”, poster, 2nd Joint Meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society, Geneva, Switzerland, June 25-29, 2005, Bone, vol. 37, supl. II, 2005, 510.

f. CURSURI POSTUNIVERSITARE

- “Actualități în diagnosticul și tratamentul osteoporozei”, 17-29 Noiembrie 2003 UMF Cluj-Napoca
- IOF Osteoporosis Diagnosis Course, 31 Oct-1 Nov, 2009, Sinaia
- Prime Course “Teaching and Learning, a course for Medical Educators”, PRIME Partnerships in International Education, 31 Mai-4 Iunie, 2010, Cluj-Napoca

Perioada	Ianuarie 2003 – decembrie 2007					
Funcția sau postul ocupat	Medic rezident endocrinolog					
Numele și adresa angajatorului	Clinica Endocrinologie, Spitalul Clinic Județean de Urgența, Cluj-Napoca					
Educație și formare						
Perioada	2005 - prezent					
Titlu ce urmează a fi acordat	Doctor în medicină					
Numele și tipul instituției de învățământ	UMF Iuliu Hațieganu, îndrumator Prof. Dr. Ileana Duncea					
Perioada	Ianuarie 2003 – decembrie 2007					
Calificarea obținută	Medic specialist endocrinolog (începând cu 2008)					
Numele și tipul instituției de învățământ	Clinica Endocrinologie, Spitalul Clinic Județean de Urgența, Cluj-Napoca (rezidențiat în endocrinologie)					
Perioada	1996 -2002					
Calificarea obținută	Licențiat în medicină					
Numele și tipul instituției de învățământ	Facultatea de Medicină Generală, Universitate de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca					
Perioada	1992 - 1996					
Calificarea obținută	Absolvent liceu					
Numele și tipul instituției de învățământ	Colegiul National "Dragos-Vodă", Sighetu Marmatiei					
Limbi străine cunoscute	Autoevaluare					
	Înțelegere		Vorbire		Scriere	
	Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	Exprimare scrisă	
Limba engleză	avansat	avansat	avansat	avansat	avansat	
Limba franceză	începător	începător	începător	începător	începător	
Altele	MEMBRU AL ASOCIATIILOR PROFESIONALE:					
	Societatea Romana de Endocrinologie					
	Societatea Romana de Psihoneuroendocrinologie					
	Societatea Europeana de Endocrinologie					



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

FACULTY OF MEDICINE

ENDOCRINOLOGY

**THE ROLE OF THE ENDOTHELIAL AND
INFLAMMATION
MARKERS IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

Scientific coordinator:

Prof. Univ. Dr. Ileana DUNCEA

PhD Candidate:

Dr. Ioana Rada MĂNĂILĂ (ILIE)

2011

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION

1. THEORETICAL CONSIDERATIONS	1
1.1 Defining the polycystic ovary syndrome –PCOS phenotypes	1
1.2 Sub-clinical cardiovascular disease -endothelial injury	5
1.3 Vascular abnormalities in PCOS women	5
1.3.1 Endothelial dysfunction	7
A. Studies of vasomotion	8
B. Biomarkers of endothelial dysfunction	12
1.3.2 Morphological studies	13
1.4 Indices of low-grade chronic inflammation in PCOS	15
1.5 Relationship of endothelial dysfunction and chronic inflammation with insulin resistance in PCOS	19
1.6 Relationship of obesity with endothelial dysfunction and low-grade chronic inflammation	22
1.7 Role of hyperandrogenemia in endothelial dysfunction and chronic inflammation in PCOS	23
1.8 Considerations regarding therapy in PCOS	26
1.10 Conclusions	29
2. PERSONAL RESEARCH	30
2.1 Endothelial injury and chronic inflammation in PCOS –the relationship with some anthropometric, metabolic and hormonal parameters	30
2.1.1 Objectives of research	30
2.1.2 Materials and methods	30
2.1.3 Results	36
2.1.3.1 The basal characteristics of PCOS and control subjects	36
2.1.3.2 Hemodynamic profile and relationships to hyperandrogenemia, body composition and indices of insulin resistance	40
2.1.3.2.1 Endothelin-1	40
2.1.3.2.2 Flow-mediated dilatation	44
2.1.3.2.3 Nitric oxide	49
2.1.3.2.4 Carotid intima-media thickness	51
2.1.3.3 Inflammatory markers and relationships to hyperandrogenemia, body composition	

and indices of insulin sensitivity	52
2.1.4 Discussions	61
2.1.5 Conclusions	75
2.2 The effects of the combined therapy metformin-DRP/EE30μg \pm weight loss on endothelial dysfunction and chronic inflammation in young obese and non-obese women with PCOS	77
2.2.1 Objectives of research	77
2.2.2 Materials and methods	78
2.2.3 Results	80
2.2.3.1 The basal characteristics of PCOS women	80
2.2.3.2 The effects of medical intervention in the total PCOS group at 6 months	83
2.2.3.2.1 The effects of drugs and weight loss on anthropometrics markers, insulin resistance, lipid profile, body composition, clinical and biochemical hyperandrogenemia	85
2.2.3.2.2 The effects of drugs and weight loss on endothelial function and structure and hsCRP levels	88
2.2.3.3 The effects of medical intervention dependent on body mass index	89
2.2.3.4 The effects of medical intervention dependent on smoking	95
2.2.3.5 The effects of medical intervention after adjusting for a decrease of >5% and >10% respectively, in body weight in the total PCOS group	97
2.2.4 Discussions	99
2.2.5 Conclusions	114
2.3 General conclusions	116
REFERENCES	120

Keywords: polycystic ovary syndrome, endothelial injury, chronic inflammation, drospirenona/ethinyl-estradiol, metformin

1. The current state of knowledge

The polycystic ovary syndrome (PCOS) is a heterogeneous disorder which affects up to 10% of women of reproductive age [Cussons et al., *Atherosclerosis*, 2006, Azziz et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2004], characterized by clinical and/or biochemical hyperandrogenism and frequently accompanied by ovulatory dysfunction, obesity and polycystic ovaries [Azziz et al., *Humana Press*, 2006, Blank et al., *Ann N Y Acad Sci*, 2008]. PCOS is considered not only an endocrinopathy which affects reproduction, but also a metabolic dysfunction. Although controversies still exist, the majority of studies suggest a high cardiovascular risk and an increased prevalence of sub-clinical cardiovascular disease, characterized through impairment of heart and arterial structure and function [Shaw et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, Talbott et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000], endothelial dysfunction, lipid abnormalities and a low-grade chronic inflammation in women with PCOS [Tarkun et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, Orio et al. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, Kelly et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2001]. Up to the present, insulin-resistance and obesity appear to be the major mediators of early endothelial dysfunction, coronary and carotid atherosclerosis and low grade chronic inflammation. Though still unclear, the androgenic excess might also be involved in the endothelial dysfunction development [Kravariti et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, Tarkun et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2004]. Lifestyle modification, diet and weight loss are essential for cardiovascular disease and diabetes mellitus prevention in overweight and obese PCOS women. In addition to these and aside from the therapeutic strategies directed toward restoration of fertility, the current pharmacological treatment of this disease is based mainly on two categories of drugs: oral contraceptives (OCP) and insulin sensitizers. Even without PCOS, possible long-term metabolic and cardiovascular adverse effects of OCP are a matter of concern. On the other hand, some studies reported an improvement of endothelial structure and function [Diamanti-Kandarakis et al., *Eur J Endocrinol*, 2005, Diamanti-Kandarakis et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, Orio et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2005] and also a decline of the hsCRP levels [Morin-Papunen et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, Diamanti-Kandarakis et al., *Hum Reprod*, 2006, Teede et al., *Fertil Steril*] after a 6-month treatment with metformin. Considering these, it seems logical to associate an OCP containing a progestin with less androgenic/antiandrogenic activity, such as drospirenona (DRP) with insulin sensitizers in the treatment of PCOS in order to counteract the potential harmful effects of the OCP on the cardiovascular markers. However, up to now, there have been no available data regarding the effect of the association OCP-DRP/EE_{30µg} +metformin + lifestyle changes on such cardiovascular risk markers in PCOS.

2. Personal contributions

2.1 Endothelial injury and low-grade chronic inflammation in PCOS- the relationship with some antropometric, metabolic and hormonal parameters

The purpose of this study was to investigate the presence of chronic inflammation, endothelial dysfunction and of anatomic markers for sub-clinical cardiovascular disease, as well as their relationships with the characteristic hormonal and metabolic alterations of the syndrome in a population of young women with PCOS. Eventually, we sought to establish which endocrine and/or metabolic parameter may independently predict increased cardiovascular risk in PCOS. There is no single study in Romania to have evaluated altogether these surrogate markers of early atherosclerosis in PCOS women. Therefore, the first chapter of this paper brings up original contributions for our country, representing, thus, a breakthrough in this direction.

Study protocol: We prospectively studied 54 women with PCOS (the diagnosis of PCOS was based on the AES 2006 guideline) and 36 healthy control women of similar age and body mass index (BMI). A complete history and physical examination, including BMI, waist hip ratio (WHR), Ferriman-Gallewey (F-G) score, systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP), smoking habit were determined by the same doctor. All blood samples were obtained during early follicular phase (days 2-5) of a spontaneous or progestin-induced menstrual cycle. Insulin (INS, $\mu\text{U/ml}$), total testosterone (TT, ng/ml), estradiol (E_2 , pg/ml), sex hormone-binding globulin (SHBG, nmol/l), endothelin-1 (ET-1, pg/ml), hsCRP (mg/l), and $\text{TNF-}\alpha$ (pg/ml) were all measured using commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits from DRG Instruments, Marburg, Germany. Besides, serum fasting glucose (GLU, mg/dl), total cholesterol (TC, mg/dl) and triglycerides (TG, mg/dl) were measured, too. The free androgen index (FAI) and the insulin resistance indices: HOMA-IR and QUICKI were calculated. The measurement of nitric oxide (NO) was accomplished by the simultaneous measurement of nitrate (NO_3^-) and nitrite (NO_2^-) using the NADPH-nitrate reductase, a method first described by Wu and Brosnan, based upon the reduction of nitrate to nitrite using NADPH and measurement of the total nitrite formed with the Griess reagent. Carotid intima-media thickness (CIMT) and flow-mediated dilation (FMD) of the brachial artery were measured in all subjects by the same experienced cardiologist who was blinded to PCOS status, using a color Doppler Ultrasound (AGILENT SONOS 4500) with a high-resolution 10-Mhz linear probe. Body composition was assessed by whole-body dual-energy X-ray-absorptiometry (DXA) with a DPX-NT (GE, Madison, USA) device.

Results: As anticipated in PCOS, TT and FAI were significantly increased ($p < 0,001$), while SHBG was significantly decreased ($p = 0,009$). However, there were no differences between PCOS patients and

controls in terms of body composition, e.g. total and trunk fat mass and fat-free mass, of fasting glucose and indices of insulin resistance. Furthermore, ET-1 levels were significantly increased ($p=0,002$) while FMD was significantly lowered in the PCOS women compared with the control women. ($p=0,001$). There were no differences between the two groups in terms of SBP, DBP, CIMT, NO concentrations and markers of inflammation: TNF- α and hsCRP.

In the whole studied population ($n=90$), ET-1 values were negatively related to SHBG levels ($r=-0,222$, $p=0,035$) and positively related to TT concentrations, FAI ($p <0,001$), BMI ($r=0,215$, $p=0,041$). Interestingly, univariate linear regression results of ET-1 and PCOS status, TT and FAI, respectively in the total group showed that only PCOS status ($p = 0.044$) was a significant predictor of ET-1 levels, while the relationship between FAI and ET-1 levels was of borderline significance. The same relationship between ET-1 and androgen levels was described when evaluating separately women with PCOS and controls: in women with PCOS, ET-1 levels correlated significantly only with TT concentrations ($r=0,310$, $p=0,023$), whereas, in controls, significant correlations were found with TT and SHBG concentrations, FAI, BMI, WHR ($p<0.05$). A borderline association was also found between hsCRP and ET-1 in controls ($r=0,308$, $p=0,068$).

In the total group, FMD values were negatively and significantly related to BMI, WHR ($p < 0.05$), insulin ($r=-0,241$, $p=0,03$) and FAI ($-0,265$, $p=0,016$). Negative, but of borderline significance correlations were also found between FMD and TG levels, ET-1, HOMA-IR, QUICKI, TT and hsCRP. Taking separately PCOS individuals and controls, there was, however, no significant association between FMD and studied parameters in the PCOS group. In multiple regression analyses for the total population the PCOS presence was a significant predictor of FMD levels, independent of any variable from the models. Additionally, both insulin ($p=0,049$) and hsCRP ($p=0,048$) were in separate models significant predictors of FMD values, independent of PCOS status, while with the inclusion of BMI, the significance of INS as an independent predictor of FMD was eliminated ($p=0,206$) and the hsCRP-FMD% relationship remained of borderline significance ($p=0,059$).

As far as the influence of obesity upon chronic inflammation is concerned, hsCRP, but not TNF- α , was significantly higher in the overweight and obese groups ($BMI >25\text{kg/m}^2$), compared with the non-obese groups ($BMI <25 \text{ kg/m}^2$), whether or not they had PCOS ($p <0.001$), but neither was significantly different when women with PCOS were compared with weight-matched controls. HsCRP significantly correlated with parameters of obesity and insulin resistance- BMI, total fat mass, trunk fat mass ($p<0.001$), fasting insulin, HOMA-IR, QUICKI ($p<0.05$) and SHBG levels in both PCOS and the total group. In the multivariate linear regression models both BMI and TC levels were independent and significant predictors of hsCRP levels in the PCOS group and the inclusion of total fat mass %, in

particular, reduced the BMI-related contribution to hsCRP variability the most (from 42% to 11.78%), suggesting that at least part of the observed association of BMI and hsCRP in PCOS may be driven by total fat mass.

Conclusions: Our data show that young, non-dyslipidemic, non-hypertensive, euglycaemic women with PCOS have altered endothelial function as documented by both impaired vascular reactivity and increased ET-1 levels, but not increased CIMT suggesting early functional pre-atherosclerotic vascular impairment. Furthermore, the PCOS status is not associated *per se* with chronic inflammation and the hsCRP concentrations are related only to obesity and metabolic alterations. Having in mind the predictive value of PCOS presence revealed by regression analysis on both FMD% and ET-1 values, we propose that PCOS status should be regarded as a predictor marker of cardiovascular risk, beside other well-known cardiovascular risk factors, such as insulin resistance, hsCRP, obesity. More long-term studies will be needed to determine the significance of the finding of early endothelial disease in women with PCOS. We also found negative correlation between increased androgen levels and hsCRP concentrations, on the one hand and indices of endothelial dysfunction, on the other hand, across all subjects, suggesting that hyperandrogenemia and chronic inflammation may impair, besides insulin resistance and other factors, endothelial function. In other words, the combination of the endothelial dysfunction related to both the PCOS status and hyperandrogenemia, on the one hand, and the co-existent obesity and metabolic alterations such as hypercholesterolemia promoting inflammation, on the other hand, can contribute significantly to the progression of atherogenesis.

2.2. The effects of the combined therapy metformin- DRP/EE30µg associated or not with weight loss on endothelial injury and low-grade chronic inflammation in young obese and non-obese PCOS women

The aim of the second part of this original research was to assess, in patients with PCOS, the effects of a pill containing 30 µg+DRP combined with metformin ± diet/weight loss on the markers of impaired arterial structure and function, low-grade chronic inflammation and also on the carbohydrate and lipid metabolism, insulin resistance and body composition, as valuable predictors of subclinical cardiovascular disease.

Study design: The treatment with the monophasic OC- DRP/EE_{30µg} (21 days/month) and metformin, given as 850 mg twice per day was started on 47 of the 54 subjects evaluated in the first part of this research. In addition, overweight and obese PCOS patients (BMI > 25 kg/m²) were invited to follow a hypocaloric diet/lose weight, while non-obese patients were instructed to maintain their weight or, if they wish, to lose weight, too. Those 25 PCOS subjects who completed the study following medical recommendations were fully reevaluated 24 weeks later through the same anthropometric, hormonal,

metabolic determinations, DXA, cardiovascular studies as in the beginning of the study, with the exception of TNF- α measurement, which was not used in the 6-month evaluation, strictly because of financial reasons.

Results: The BMI ($p < 0.001$), total fat mass % ($p = 0.018$) and lean mass (kg) ($p = 0.009$) were significantly decreased by the pharmacologic approach and diet in the total PCOS group, while WHR and trunk fat mass % declined only borderline. Regarding insulin resistance, both fasting insulin and HOMA-IR (or QUICKI), significantly improved after the medical intervention in comparison with baseline values ($p \leq 0.001$), whereas on the contrary, both TC ($p = 0.005$) and TG ($p = 0.04$) concentrations significantly increased. As expected after 24 weeks of treatment and diet, and compared with baseline measurements, F-G score ($p = 0.020$, TT ($p = 0.007$) and FAI ($p < 0.001$) significantly decreased, while SHBG significantly increased ($p < 0.001$). Although not a statistically significant change, the association of diet with metformin plus 30 μg EE+DRP was accompanied by a trend towards increased FMD in PCOS subjects ($p = 0.101$), while ET-1 concentrations declined, though not statistically significantly, and both NO and hsCRP levels did not change over the study. On the contrary, a significant rise in the CIMT was noted over the study ($p = 0.003$). Considering non-obese and obese PCOS subjects separately, the following parameters showed a significant improvement after 6 months of therapy associated with diet, compared to baseline in the overweight and obese PCOS subgroup: BMI ($p = 0.001$), FAI ($p = 0.011$), TT ($p = 0.009$), F-G score ($p = 0.007$), INS, HOMA-IR, QUICKI ($p \leq 0.003$), total fat mass % ($p = 0.016$) and lean mass ($p = 0.006$). On the contrary, both CIMT max ($p = 0.007$) and TG levels ($p = 0.004$) significantly increased in obese and overweight PCOS women, whereas there was also a borderline increase in TC concentrations. On the contrary, non-obese PCOS patients noted significant changes only in FAI, SHBG concentration and F-G score ($p < 0.05$). In addition, serum TC rose ($p = 0.047$) over the study period and it was noted also a borderline increase in QUICK index, too. Regarding the smoking status, the fasting glucose, both insulin resistance indices, SHBG levels and FAI ($p \leq 0.021$) improved significantly in non-smokers during the study and they showed no changes or only borderline modifications towards a better status in smoker PCOS subjects.

We noted that our group of PCOS women undergone a 6.61 % amount of weight loss, while in the subgroups of obese and non-obese subjects a weight reduction of 8.78 % and 2.10% respectively, occurred. Having in mind the relationship between obesity and several parameters and the possible favourable impact of losing weight on them on one hand and trying to establish the influence of the drug association prescribed in this research on cardiovascular risk markers, on the other hand, adjustments for weight loss were made, taking as cut-offs a value of $> 5\%$ weight loss and a value of $> 10\%$ weight loss, respectively.

Even after adjusting for a decline of $> 5\%$ in BMI and $> 10\%$ in BMI, respectively there was still a

significant difference between the basal values of BMI, FAI, TT, total fat mass %, SHBG ($p < 0.05$) and their values at 6 months, while regarding lean mass ($p = 0.016$), HOMA-IR ($p = 0.014$), QUICKI ($p = 0.026$), INS ($p = 0.016$) and trunk fat mass ($p = 0.033$), significant differences were present only after the adjustment for $> 5\%$ decline in BMI. Additionally, the unfavourable increments in CIMT max and TG concentrations over the 6 month treatment observed in our research were significant after applying the adjustment for $> 5\%$ decrease in BMI ($p = 0.008$, $p = 0.012$, respectively), suggesting a potential harmful effect of the medication taken by our patients on some surrogate markers of cardiovascular risk.

Conclusions: To our best knowledge, the present study is the first to evaluate the effect of metformin and the antiandrogenic OC containing DRP/EE_{30µg} combined with weight loss exerted on the surrogate markers of arterial structure and function, hsCRP concentrations, body composition and carbohydrate and lipid metabolism of obese and non-obese women with PCOS. Our results suggest that the association metformin- DRP/EE_{30µg} ± moderate weight loss may differently affect the cardiovascular risk factors having a positive impact on clinical and biochemical hyperandrogenism, body composition and carbohydrate metabolism, a mild positive /neutral effect on FMD, NO and ET-1 concentrations and also on inflammation but with no beneficial effects on markers of arterial structure and lipid profile in both total PCOS group and the obese sub-group. On the contrary, a progression of the CIMT was found over the study. There were no significant changes of endothelial function, CIMT max, hsCRP levels or of any other parameters in the non-obese subgroup, except an improvement in hyperandrogenemia and insulin sensitivity observed at 6 months, for which the combination of drugs used in this study may be totally responsible. At least, we can say that the metformin+DRP/EE_{30µg} association administered to non-obese PCOS women is safe, as no further deterioration in cardiovascular risk factors were noted in these women. Although our study is limited by the lack of a weight loss control group, the results obtained after the adjustment for $> 5\%$ and $> 10\%$ decrease in body weight suggest that the medical treatment used might have neutral or mild positive effects on endothelial function and hsCRP levels, or at least it does not seem to counteract the effect of the loss of weight due to healthier lifestyle changes on FMD but it might worsen arterial structure and increase TG levels. Smoking inhibited several beneficial effects of medical intervention upon some carbohydrate and insulenic metabolism and markers of hyperandrogenemia, emphasizing once again its deleterious effects and that its cessation should be aggressively promoted in PCOS subjects.

Curriculum Vitae

Personal information

First name / Surname

IOANA RADA ILIE

Address no. 12/18, Aleea Moldoveanu, Cluj Napoca, Romania

Telephone +40 742699737

E-mail ioanamanaila@yahoo.com

Nationality Romanian

Date and place of birth 29.11.1977, SIGHETU MARMATIEI

Marital status Married

Professional experience

Dates

2007– present

Occupation or position held Assistant professor

Name and address of employer 'Iuliu Hatieganu' University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, The Department of Endocrinology

Main activities (Scientific contributions)

a. SCIENTIFIC RESEARCH PAPERS ELABORATED AND/OR PUBLISHED

- Ghibu S, **Ilie IR**: "Perspectives in the experimental study of the metabolic syndrome", Pharmacy, No 4, 2011
- Pepene CE, **Ilie IR**, Marian I, Duncea I: " *Circulating osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa β ligand in polycystic ovary syndrome: relationships to insulin resistance and endothelial dysfunction*", European Journal of Endocrinology, vol 164, 61-68, 2011
- **Ilie IR**, Pepene CE, Marian I, Mocan T, Hazi G, Drăgotoiu G, Ilie R, Mocan L and Duncea I: " *The polycystic ovary syndrome (PCOS) status and cardiovascular risk in young women*", Central European Journal of Medicine, 2011, vol 6, 64-75, DOI:10.2478/s11536-010-0054-1
- Mocan T, Clichici S, Agoșton-Coldea L, Mocan L, Șimon Ș, **Ilie IR**, Biriș AR, Mureșan A: " *Implications of oxidative stress mechanisms in toxicity of nanoparticles*", Acta Physiologica Hungarica, vol 97(3), 247-255, September, 2010
- Iancu C, **Ilie IR**, Georgescu CE, Ilie R, Biriș AR, Mocan T, Mocan L, Zaharie F, Todea-Iancu D, Susman S, Rus Ciuca D, Biriș AS „ *Applications of Nanomaterials in Cell Stem Therapies and the Onset of Nanomedicine*", "Particulate Science and Technology", 27: 6, 562 — 574, November 2009

- Pepene C, **Ilie IR**, Seceleanu A, Gherghel D, Duncea I: “*Co-existence of euthyroid Graves ophthalmopathy and isolated ocular myasthenia in a patient with vitiligo: a challenging diagnosis of auto-immune polyglandular syndrome-3C*”, *Neuro-Ophthalmology*, vol 33 (5), 268-272, October, 2009
- Pepene CE, **Ilie IR**, Mihiu D, Stan H, Albu S, Duncea I: “*Pituitary abscess followed by empty sella syndrome in an adolescent girl*”, *Pituitary*, vol 13 (4), 385-389, 2010
- Georgescu C, **Ilie IR**, Paul A, Mihiu D, Duncea I, Mocan T, Duncea I:” *Value of quantitative heel and proximal phalanges ultrasonograph versus dual X-ray absorptiometry in women aged 24-80 years*”, *Acta Endocrinologica (Buc)*, vol IV (3) 297-308, 2008
- **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Ilie R: “*Vascular abnormalities and low-grade chronic inflammation in women with polycystic ovary syndrome: relationships with insulin resistance, obesity and hyperandrogenemia*”, *Central European Journal of Medicine*, vol 3(3), 257-270, September, 2008

b. PRIZES

- The 1st prize for “ *The circulating osteoprotegerin (OPG) and soluble receptor activator of nuclear factor kappa β ligand (sRANK) system in polycystic ovary syndrome (PCOS)*”, The Days of U.M.P. „Iuliu Hatieganu”, 2010, the poster section, the section of medical science; Authors: Georgescu C, **Ilie IR**, Marian I, Brad C, Hazi G, Dragatoiu G, Duncea I
- The “ C.I. Parhon” Prize for “*Altered endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome*”, The 5th Congress of the Association of Clinical Endocrinology of Romania, 1-4 September, Galati-Braila, 2010; Authors: **Ilie IR**, Georgescu C, Zdrehus A, Marian I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Ilie R, Duncea I
- Prize – as co-author of “*Co-existence of euthyroid Graves ophthalmopathy and isolated ocular myasthenia in a patient with vitiligo: a challenging diagnosis of auto-immune polyglandular syndrome-3C*”, Pepene C, **Ilie IR**, Seceleanu A, Gherghel D, Duncea I, *Neuro-Ophthalmology*, vol 33 (5), 268-272, October, 2009, The Award Programme for the Results of the Research, The Phase II 2009 Competition (CNCSIS CODE 1910)
- Prize–as co-author of „*Applications of Nanomaterials in Cell Stem Therapies and the Onset of Nanomedicine*” Iancu C, **Ilie IR**, Georgescu CE, Ilie R, Biris AR, Mocan T, Mocan L, Zaharie F, Todea-Iancu D, Susman S, Rus Ciuca D, Biris AS. published in ISI magazine “*Particulate Science and Technology*”, 27: 6, 562 — 574; November 2009, The Award Programme for the Results of the Research, The Phase III 2009 Competition (CNCSIS CODE 526)
- The “Eugenia Marcela Pitis” Prize for “*The metabolic syndrome and cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome*”, The 3rd Congress of the Association of Clinical Endocrinology of Romania, 25-27September, Cluj-Napoca, 2008; Authors: **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Fiscutean O, Moldovan M
- The “Rodica Dascalu” Prize for “*Genetic predisposition toward autoimmune thyroid diseases related to CTLA4 gene polymorphism*”,The 4th Congress of the Association of Clinical Endocrinology of Romania, 2-5 September, Constanta, 2009; Authors: Crişan L, Popp R, Georgescu C, **Ilie IR**, Paul A, Crisan T, Brad C, Duncea I
- Prize –as co-author of “*Value of quantitative heel and proximal phalanges ultrasonograph versus dual X-ray absorptiometry in women aged 24-80 years*”, Georgescu C, **Ilie IR**, Paul A, Mihiu D, Duncea I, Mocan T, Duncea I, *Acta Endocrinologica (Buc)*, vol IV, no.3, pp 297-308, 2008 “, The Award Programme for the Results of the Research, the November 2008 Competition (CNCSIS CODE 172)
- Prize-as author of “*Vascular abnormalities and low-grade chronic inflammation in women with polycystic ovary syndrome: relationships with insulin resistance, obesity and hyperandrogenemia*”, **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Ilie R, *Central European Journal of Medicine*, vol 3(3), pp 257-270, September, 2008” at The Award Programme for the Results of the Research ,The November 2008 Competition (CNCSIS CODE 171)

- Special prize for scientific paper, the poster section the section of medical science for: “*A comparative study between proximal phalanga ultrasonography and dual X-ray absorbtometry in establishing the risk of osteoporotic fractures in women*”, 3-7 December, Cluj-Napoca, 2007; Authors: Georgescu C, **Ilie IR**, Duncea I
- Prize for scientific paper of educational employee in the poster section , the section of medical science for: “*Modifications of body composition and bone mineral density in postmenopausal women: the relationship with some clinic and metabolic parameters*“, The Days of U.M.P. Iuliu Hatieganu”, 2-5 December, Cluj-Napoca, 2003; Authors: Georgescu C, Duncea I, Naumescu S, Filip I, Pop G, **Manaila (Ilie) IR**

c. PARTICIPATIONS AT NATIONAL RESEARCH PROGRAMMES AS MEMBER

- CNCSIS type A Grant, code 552 on „*The osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor kappa β ligand in bone density and body composition determinism and the relationship with systemic hormones, adipokines and endothelial markers*”, 2007-2008
- PNCDI Grant –financing contract 41_068/2007 on “*Clinical and experimental researches on persistent organic pollutants having the function of endocrine disruptors in human and animal biological environments and their implications in determining insulin-resistance/the metabolic syndrome*”, 2007-2013
- PNCDI Grant -41-009 on “*The molecularly targeted therapy of the pancreatic neoplasm through the optical LASER resonant excitation of the carbon tubes chemically functionalized and cellular internalized. NANOPAN*”, 2007-2013
- PNCDI-42-115- *The photothermal selective therapy of the hepatocarcinoma through intracellular internalization and mechanisms of Laser activation of the functionalized bio-ligand carbon nanotubes.NANOHEP*, 2008-
- PNCDI-42-111- *The colon-rectal cancer prophylaxis through the generation, the testing and the modulation of vaccines based on undifferentiated stem cells. VACSTEM*, 2008-

d. PARTICIPATIONS AT CLINICAL STUDIES

- A multicentric study with the theme „The evaluation of the vertebra fractures incidence under the treatment with bazedoxifen on women with postmenopausal osteoporosis ”, 2005-2008
- A comparative clinical study between dual X-ray absorbtometry and proximal phalanga ultrasonography in assessing the fracture risk– International Research Contract, 2006-2007

e. PARTICIPATIONS AT NATIONAL AND INTERNATIONAL CONGRESSES (THE MOST RELEVANT PAPERS EXCEPT FOR THE ONES MENTIONED IN THE PRIZE SECTION)

- **Ilie IR**, Georgescu C, Marian I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Ilie R, Brad C, Zdrehus A, Fiscuteanu O, Duncea I: “*Polycystic ovary disease is associated with endothelial dysfunction*”, The Days of Iuliu Hatieganu UMP, 24-27 November, 2009
- **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Man B, Ilie R, Zdrehus A: “*Is there chronic inflammation in polycystic ovary syndrome?*”, The National Congress of Endocrinology with International Participation, The 7th Edition, Sinaia, 29-31 October 2009, abstract volume pp 42
- Georgescu C, **Ilie IR**, Marian I, Hazi G, Dragatoiu G, Mocan T, Brad C, Man B, Duncea I: “*Cardiometabolic risk in polycystic ovary disease- actual controversies and therapeutic implications*”, The National Congress of Endocrinology with International Participation, The 7th Edition, Sinaia, 29-31 October 2009, abstract volume pp 21
- **Ilie IR**, Georgescu C, Duncea I, Hazi G, Dragatoiu G, Man B, Mocan T, Ilie R, Fiscutean O: “*Markers of inflammation in polycystic ovary syndrome – the relationship with some metabolic, hormonal and antropometric parameters* ”, The 4th Congress of the Association of Clinical Endocrinology of Romania, 2-5 September 2009, Constanta

- Georgescu C, **Ilie IR**, Brad C, Duncea I, Paul A, Duncea I: “*Influence of age, menopause and body composition on bone mineral density in non-obese healthy Romanian subjects*”, The 11th European Congress of Endocrinology, 25-29 April, 2009, Istanbul, Turkey, Endocrine Abstracts (2009) vol 20, p248
- Georgescu C, **Ilie IR**, Duncea I: “*Body composition evaluation through dual X-ray absorptiometry duala: the effects of age, menopause and lifestyle*” (*Evaluation de la composition corporelle par dual X-ray absorptiometry: effets de l’age, de la menopause et du mode de vie*”), The 14th French Symposium, 14-16 May, Iasi, 2008
- Georgescu C, **Manaila (Ilie) IR**, Duncea I: “*Relationships between body composition, peak bone mass and life-style factors in healthy young Romanian adults*”, 17th Scientific Meeting of the International Bone and Mineral Society (IBMS), Montreal, 24-27 June 2007.
- Georgescu C, Duncea I, Pop G, Chiorean D, **Manaila (Ilie) IR**, Paul A : “*Calcanean quantitative ultrasonography (QUS) versus dual X-ray absorbtometry (DXA) to assess the risk of osteoporotic fractures- a clinical study*”, The national Congress of Endocrinology, Sibiu, 24-26 October, 2006.
- Georgescu C, Naumescu S, **Mănăilă (Ilie) IR**, Duncea I : “*Relationships between fat mass, lean mass and bone mineral density in healthy eugonadal romanian women*”, poster, 2nd Joint Meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society, Geneva, Switzerland, June 25-29, 2005, Bone, vol. 37, suppl. II, 2005, 510

f. POST-UNIVERSITY COURSES

- “Actualities in the diagnosis and treatment of osteoporosis”, 17-29 November 2003, ‘Iuliu Hatieganu’ University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca
- IOF Osteoporosis Diagnosis Course, 31 October-1 November, 2009, Sinaia
- Prime Course “Teaching and Learning, a course for Medical Educators”, PRIME Partnerships in International Education, 31 May-4 JUNE, 2010, Cluj-Napoca

Dates	January, 2003 - December, 2007
Occupation or position held	Resident Physician in Endocrinology
Name and address of employer	The County Hospital of Emergency, The Clinic of Endocrinology
Education and training	
Dates	2005 - present
Title of qualification to be awarded	PhD Graduate, scientific coordinator Prof. Dr. Ileana Duncea
Name and type of organization providing education and training	‘Iuliu Hatieganu’ University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca

Dates **January, 2003 - December, 2007**

Title of qualification awarded Endocrinology Specialist Physician (starting with 2008)

Name and type of organisation providing education and training The County Hospital of Emergency, Cluj-Napoca, The Clinic of Endocrinology (5 year residency stage)

Dates **1996 -2002**

Title of qualification awarded University Graduate

Name and type of organisation providing education and training Faculty of Medicine, 'Iuliu Hatieganu' University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca

Dates **1992-1996**

Title of qualification awarded Highschool graduate

Name and type of organisation providing education and training 'Dragos-Voda' National College, Sighetu-Marmatiei

Foreign languages

Self-assessment

Understanding		Speaking		Writing
Listening	Reading	Spoken interaction	Spoken production	
advanced	advanced	advanced	advanced	advanced
beginner	beginner	beginner	beginner	beginner

English

French

Others **MEMBER IN SCIENTIFIC SOCIETES:**

- Romanian Society of Endocrinology
- Romanian Society of Psychoneuroendocrinology
- European Society of Endocrinology