

Analiza razine steroidnih hormona u serumu oboljelih od sindroma policističnih ovarija

Gotovac, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:798765>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
PRIJEDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

Petra Gotovac

**ANALIZA RAZINE STEROIDNIH
HORMONA U SERUMU OBOLJELIH OD
SINDROMA POLICISTIČNIH OVARIJA**

Završni rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
PRIJEDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Petra Gotovac

ANALIZA RAZINE STEROIDNIH
HORMONA U SERUMU OBOLJELIH OD
SINDROMA POLICISTIČNIH OVARIJA

Završni rad

Osijek, 2024.

Rad je ostvaren na Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Osijek.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Željko Debeljak

Rad ima 23 stranice, 2 tablice i 4 slike.

Zahvale

Veliku zahvalnost izražavam mentoru izv. prof. dr. sc. Željku Debeljaku na svom odvojenom vremenu, iznimnoj ažurnosti te na svakom odgovoru na moja pitanja.

Veliko hvala dr.med. Aureliji Vukičević za nesebičnu podršku te na svom znanju koje je podijelila sa mnom.

Posebno hvala mojim roditeljima i bratu jer su uz mene u svakom trenutku. Jer me ohrabruju pri svakoj prepreci. Hvala vam na svakoj molitvi za mene i svim riječima kojima ste mi pružili podršku.

Hvala i mojim prijateljicama Aniti, Kristini, Luciji i Gabrijeli. Zahvalna sam što vas imam u životu i što znam da se uvijek mogu osloniti na vas.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Testosteron	2
1.3. Slobodni testosteron	2
1.2. Globulin koji veže spolne hormone (SHBG)	2
1.4. Hirzutizam	3
1.5. Inzulinska rezistencija (IR).....	3
1.6. Debljina	4
2. HIPOTEZA	5
3. CILJEVI	6
4. ISPITANICI I METODE	7
4.1. Ustroj studije.....	7
4.2 Ispitanici	7
4.3 Metode	7
4.3.1. Određivanje koncentracije testosterona u serumu	7
4.3.2. Određivanje koncentracije slobodnog testosterona u serumu.....	8
4.3.3. Određivanje koncentracije SHBG-a u serumu.....	8
4.4. Statističke metode.....	8
5. REZULTATI	9
5.1. Udjeli izmjerenih parametara kod žena sa PCOS-om	9
5.2. Korelacije parametara.....	10
5.3. Rezultati analize povezanosti između parametara	10
5.4. Distribucije podataka	11
5.5. ROC analiza.....	13
6. RASPRAVA.....	14
7. ZAKLJUČAK	16

8. SAŽETAK	17
9. SUMMARY	18
10. LITERATURA	19
11. ŽIVOTOPIS	22
12. PRILOZI.....	23

POPIS KRATICA

AUC – površina ispod krivulje (engl. *Area under the curve*)

BIS – bolnički informacijski sustav

CMIA – kemiluminiscentni imunotest s mikročesticama (engl. *Chemiluminescent microparticle immunoassay*)

DHEA-S – dehidroepiandrosteron-sulfat (engl. *Dehydroepiandrosterone sulfate*)

DHT – dihidrotestosteron (engl. *Dihydrotestosterone*)

FSH - folikularni stimulirajući hormon (engl. *Follicle-stimulating hormone*)

GnRH – gonadotropin-oslobađajući hormon (engl. *Gonadotropin-releasing hormone*)

HA – hiperandrogenizam (engl. *Hyperandrogenism*)

HI – hiperinzulinemija (engl. *Hyperinsulinemia*)

HNF-4 α – hepatocitni nuklearni faktor 4 alfa (engl. *Hepatocyte nuclear factor 4 alpha*)

HOMA-IR – homeostatski model za procjenu inzulinske rezistencije (eng. *Homeostasis model Assessment for insulin resistance*)

IR – inzulinska rezistencija (engl. *Insulin resistance*)

LC-MS/MS – tekućinska kromatografija s tandemskom masenom spektrometrijom (engl. *Liquid chromatography- tandem mass spectrometry*)

LH – luteinizirajući hormon (engl. *Luteinizing hormone*)

LIS – laboratorijski informacijski sustav (engl. *Laboratory Information System*)

PCOM – policistična ovarijska morfologija (engl. *Polycystic ovary morphology*)

PCOS – sindrom policističnih ovarija (engl. *Polycystic ovary syndrome*)

ROC – operacijska svojstva primatelja (engl. *Receiver operating characteristic*)

SHBG – globulin koji veže spolne hormone (engl. *Sex hormone binding globulin*)

1. UVOD

Sindrom policističnih ovarija (PCOS) složeni je endokrini poremećaj i jedan je od najčešćih uzroka hormonskih problema kod žena reproduktivne dobi (1). Zbog značajne multifaktorijalne etiologije i heterogene kliničke slike, točni mehanizmi koji dovode do same patofiziologije PCOS-a su još uvijek nedovoljno jasni (2). U osnovi, PCOS karakteriziraju hiperandrogenizam (HA), hirutizam, oligoovulacija, akne, inzulinska rezistencija (IR) te debljina.

Disfunkcija u osovini hipotalamus-hipofiza-gonade smatra se značajnim patofiziološkim čimbenikom koji doprinosi razvoju PCOS-a. Poznato je kako visoke frekvencije pulsa gonadotropin-oslobađajućeg hormona (GnRH) bolje stimuliraju proizvodnju luteinizirajućeg hormona (LH), dok sinteza folikularnog stimulirajućeg hormona (FSH) bolje reagira na niže frekvencije pulsa. No kod PCOS-a je dokazan postojan visokofrekventni puls koji rezultira povišenoj razini LH te relativnom nedostatku FSH (3). Kao rezultat toga, povišene razine LH stimuliraju tekalne stanice u ovarijima na sintezu viška androgena. Kada dođe do HA-a, on se može klinički očitovati hirutizmom, aknama, menstrualnim poremećajima ali se također prepoznaje kao jedan od mogućih uzroka IR-je.

Neravnoteža u lučenju LH i FSH doprinosi i pojavi oligo-/anovulacije kod PCOS-a. Relativno niske razine FSH uz povišene razine LH mogu spriječiti potpuni razvoj folikula, a to može rezultirati stvaranjem malih folikula, vidljivih u obliku cisti na ultrazvuku. Odnosno, može doći do karakterističnog izgleda ovarija u PCOS-u (4).

Za samu dijagnostiku PCOS-a ne postoji "zlatni standard", no u praksi su prihvaćeni Rotterdamski kriteriji kao smjernice za postavljanje dijagnoze ovog sindroma. Za potvrdu dijagnoze potrebna je prisutnost dva od triju navedenih stanja: 1. oligo-/anovulacija 2. klinički ili biokemijski znakovi HA-a, 3. policistična ovarijska morfologija (PCOM) vidljiva na ultrazvuku (5).

Kod većine žena sa PCOS-om dođe do povišenih razina androgena. No to se klasično povišenje neće uvijek prezentirati kao lako uočljive vanjske karakteristike, stoga je nužno analizom steroidnih hormona, kao što su testosteron i slobodni testosteron pružiti detaljnije informacije o biokemijskoj osnovi HA. Također su potrebna daljnja istraživanja o samoj regulatornoj ulozi androgena, kako bi se uspostavile jasnije veze između HA i IR i njihovih kliničkih manifestacija (6,7).

1.1. Testosteron

Testosteron je važan hormon ženskog reproduktivnog sustava. U tijelu se stvara u kori nadbubrežne žlijezde, odnosno u zoni fascikulata i zoni reticularis. Također ga stvaraju teka stanice u ovarijima, dok se ostatak stvara iz cirkulirajućih androgena, uglavnom androstendiona i dehidroepiandrostendiona-sulfata (DHEA-S). Nastali testosteron u teka stanicama ključan je za razvoj folikula jer se koristi za proizvodnju estrogena kroz proces aromatizacije u granulosa stanicama. U krvi je većim dijelom vezan za globulin koji veže spolne hormone (SHBG), dok je manji dio slabije vezan za albumin (8). Kada se mjeri, ukupni testosteron uključuje svoju slobodnu, aktivnu, kao i vezanu neaktivnu frakciju. Pri sumnji na PCOS, ključan je hormon koji se mjeri kao dio hormonskog profila. Povišene razine ovog hormona nisu povezane samo uz fizički vidljive simptome, kao što su hirzutizam i akne, nego doprinose endokrinim i metaboličkim poremećajima karakterističnim za ovaj sindrom.

1.3. Slobodni testosteron

Slobodni testosteron čini oko 2-3% ukupnog testosterona te predstavlja njegovu slobodnu, biološki aktivnu frakciju. Unatoč malom postotku, slobodni testosteron ključan je zbog svoje mogućnosti lakog prolaska kroz stanične membrane te vezanja za androgene receptore na ciljnim stanicama. Stvaranjem interakcije sa svojim receptorom može promijeniti ekspresiju gena te dovesti do fizioloških i metaboličkih promjena. Ova biološka aktivnost posebno se očituje kod PCOS-a, gdje slobodni testosteron može imati značajnu ulogu u manifestaciji određenih simptoma, kao što su HA, i stoga može biti osjetljiv pokazatelj ovog stanja (9).

1.2. Globulin koji veže spolne hormone (SHBG)

SHBG je glikoprotein koji se većim dijelom sintetizira u jetri, te u organizmu ima ulogu nosača androgena i estrogena. Veže se s visokom specifičnošću i afinitetom za dihidrotestosteron (DHT) i testosteron, dok pokazuje slabiji afinitet prema estradiolu i estronu (10). Samim vezanjem regulira bioraspoloživost spolnih hormona, čime direktno utječe na koncentraciju njihovih aktivnih oblika. Razine SHBG-a u serumu ovise o spolu i dobi osobe, pri čemu su kod žena obično prisutne veće koncentracije, koje osciliraju tijekom menstrualnog ciklusa. No kod žena sa PCOS-om mogu se primijetiti snižene razine SHBG-a (11). Sinteza SHBG-a regulirana je transkripcijskim faktorom, poznatim kao hepatocitni nuklearni faktor 4

alfa (HNF-4 α). Stanje poput hiperinzulinemije (HI), koja je često posljedica IR-je, može inhibirati HNF-4 α i time smanjiti razine cirkulirajućeg SHBG-a u serumu (12,13). Uz to, povišene razine androgena također mogu imati negativan učinak na ekspresiju SHBG-a u jetri. Pri sniženim razinama SHBG-a, manje se testosterona može vezati na njega, rezultirajući povišenim razinama slobodnog testosterona. Konstantno povišeni slobodni testosteron zatim može smanjiti osjetljivost hipotalamusa na LH, što može rezultirati pojačanom stimulacijom LH te dodatnom sintezom androgena (10). Opisanim interakcijama, vidljivi su složeni mehanizmi interakcija ovog proteina i njegova bitna uloga u održavanju hormonske ravnoteže.

1.4. Hirzutizam

Hirzutizam se odnosi na pojačanu dlakavost, odnosno prisutnost muškog obrasca dlakavosti kod žena. Klinička slika hirzutizma nije česta kod opće populacije, no kod žena sa PCOS-om smatra se da prevalencija iznosi oko 65-75% (14). Hirzutizam zahvaća područja na tijelu koja inače ne pokazuju izražen rast tamne i grube dlake, kao što su lice, leđa i abdomen. Upravo se ova područja smatraju androgen ovisnima, što znači da je sama folikula dlake osjetljiva na djelovanje androgena. Kada se androgeni vežu na svoje androgen receptore u stanicama folikula dlake, potiču promjenu velus dlake, koja je tanka i svijetlije pigmentirana, u deblju i tamniju poznatu kao terminalna dlaka (15). S obzirom na to da većina žena sa PCOS-om ima HA, može se uvidjeti zašto je hirzutizam jedan od ključnih simptoma ovog sindroma. Inzulin također može imati utjecaj na folikulu dlake, pa tako, kod PCOS-a, kombinacija HA i IR može pridonijeti razvoju hirzutizma (16).

1.5. Inzulinska rezistencija (IR)

Inzulin je dvolančani peptidni hormon koji ima ulogu u regulaciji koncentracije glukoze u organizmu. Vezanjem za inzulinski receptor povećava permeabilnost staničnih membrana i time olakšava prolazak glukoze, pretežno u hepatocite, miocite te adipocite. Djeluje kao inhibitor glikogenolize i sudjeluje u aktivaciji glikogen sintaze, čime potiče skladištenje glikogena. Također ima ulogu u metabolizmu lipida, gdje stimulira lipogenezu te ihibira lipolizu.

IR predstavlja smanjenu osjetljivost stanica na utjecaj inzulina. Kada dođe do IR-je, organizam, stimulira gušteraču na povećanu proizvodnju inzulina, te zatim dođe do kompenzatorne HI (17). Povišene razine inzulina, tada mogu djelovati na i dalje osjetljive teka

stanice ovarija i stimulirati proizvodnju androgena, čime se može pogoršati HA povezan sa PCOS-om (18,19). Kako bi se dijagnosticirala IR, uglavnom se koristi indeks homeostatskog modela za procjenu inzulinske rezistencije (HOMA-IR) (20).

1.6. Debljina

Debljina se definira kao prisutnost viška masnog tkiva u organizmu, te je česta pojava kod žena sa PCOS-om (21). Dokazano je kako je debljina usko povezana s pogoršanjem metaboličkih i endokrinih poremećaja povezanih s ovim sindromom (22). Jedan od ključnih čimbenika koji povezuje debljinu i IR-ju je adiponektin. Adiponektin je hormon kojeg proizvodi visceralno tkivo te ima ulogu u povećanju osjetljivosti inzulina. Međutim, kod žena sa PCOS-om, uz prisutnost debljine, uočene su snižene razine adiponektina, što može pogoršati IR-ju (23). Masno tkivo sadrži androgene receptore, što ga čini podložnim učincima HA. Vezanjem na svoje receptore, androgeni mogu poremetiti samu regulaciju, odnosno mogu dovesti do visceralnog nakupljanja masti (24). Uz to, androgeni poput testosterona, mogu sniziti cirkulirajuće razine adiponektina i time dodatno pridonijeti razvijanju IR-je (25). Kompleksne interakcije između debljine, IR-je i HA-a naglašavaju složenu prirodu PCOS-a te otežavaju potpuno razumijevanje samog sindroma.

2. HIPOTEZA

Žene sa PCOS-om imaju povišene razine testosterona i slobodnog testosterona uz niže razine SHBG-a u usporedbi sa ženama bez PCOS-a.

3. CILJEVI

Ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati razine testosterona i slobodne frakcije testosterona kod žena s PCOS-om i žena bez PCOS-a.
2. Ispitati razine SHBG-a kod žena s PCOS-om i žena bez PCOS-a.
3. Usporediti rezultate između skupina žena s PCOS-om i žena bez PCOS-a.
4. Ispitati povezanost između razine testosterona, slobodnog testosterona i SHBG-a kod žena s PCOS-om.
5. Ispitati dijagnostički značaj razina ukupnog, slobodnog testosterona i SHBG-a kod PCOS-a.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Istraživanje parova – opservacijska studija (case – control study) koja uključuje skupinu žena s dijagnozom PCOS-a (slučajevi) i skupina žena bez dijagnoze PCOS-a (kontrola). Kriteriji za uključivanje ispitanika u studiju: ženski spol, dob iznad 18 godina, potvrda dijagnoze PCOS-a. Kriteriji za isključivanje ispitanika u studiju: dob iznad 44 godine, nedostatak podataka o koncentraciji hormona, suspektne dijagnoze za PCOS.

4.2 Ispitanici

Istraživanje uključuje skupinu od 50 žena s dijagnozom PCOS-a te kontrolnu skupinu od 50 žena bez dijagnoze PCOS-a. Prilikom odabira ispitanika za kontrolnu skupinu, osigurano je da uz odsutnost dijagnoze PCOS-a nije prisutan nijedan drugi endokrinološki ili ginekološki poremećaj koji bi mogao utjecati na koncentraciju mjerenih analita. Korišteni laboratorijski parametri ispitanika prikupljeni su u razdoblju od 2021. do 2023. godine. Kako bi se osigurala privatnost, svi osobni podaci su šifrirani što onemogućuje pronalazak identiteta osoba uključenih u istraživanje. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Osijeku, 19. srpnja 2024., URBROJ: 2158-61-46-24-168

4.3 Metode

Istraživanje je provedeno pretraživanjem laboratorijskog informacijskog sustava (LIS) prema parametru testosteron. Nakon identifikacije pacijentica s izmjerenim koncentracijama testosterona, slobodne frakcije testosterona te SHBG-a učinjena je provjera u bolničkom informacijskom sustavu (BIS) radi potvrđivanja dijagnoze PCOS-a od strane liječnika specijalista endokrinologije ili ginekologije. Svi značajni podaci uz potvrdu dijagnoze, uneseni su u Excel (Microsoft Office 365, USA). Pretraživanje je također izvršeno u nalazima iz BIS-a radi mogućeg pronalaska kliničkih simptoma koji prate ovaj sindrom. Ako su simptomi pacijentice potvrđeni, u tablici su označeni kao prisutni.

4.3.1. Određivanje koncentracije testosterona u serumu

Koncentracije testosterona u serumu dobile su se korištenjem tekućinske kromatografije s tandemskom masenom spektrometrijom (engl. *Liquid chromatography-tandem mass*

spectrometry (LC-MS/MS)) uz primjenu odgovarajućeg kita (Chromsystems, Njemačka). LC-MS/MS je analitička tehnika gdje se analiti prvo odvajaju pomoću tekućinske kromatografije, nakon čega slijedi ionizacija i otparavanje. U MS/MS sustavu ioni se prvo odvajaju na temelju omjera mase i naboja pomoću prvog kvadrupola. Prekursorski ioni zatim ulaze u kolizijsku ćeliju gdje se interakcijom sa inetrnim plinom fragmentiraju. Rezultirajući ioni se filtriraju drugim kvadrupolom te dolaze do detektora. Ovim procesom omogućena je analiza niskih koncentracija analita uz visok stupanj selektivnosti mjerenja.

4.3.2. Određivanje koncentracije slobodnog testosterona u serumu

Slobodna frakcija testosterona izračunata je pomoću Vermeuleneve formule koju je osmislio dr. Alex Vermeulen 1999. godine. Izračun se temelji na zakonu o djelovanju masa, uzimajući u obzir ravnotežu između testosterona i njegovih nosača kao i samu koncentraciju testosterona, SHBG-a i albumina (26).

4.3.3. Određivanje koncentracije SHBG-a u serumu

Kako bi se dobile koncentracije SHBG-a koristio se kemiluminiscentni imunotest s mikročesticama (engl. *Chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA)). Primarno antitijelo specifično za SHBG se veže za samu molekulu u serumu, na primarno se zatim veže sekundarno antitijelo obilježeno kemiluminiscentnom tvari. Dodavanjem supstrata dolazi do kemijske reakcije pri kojoj kemiluminiscentna molekula prelazi iz pobuđenog stanja u osnovno, oslobađajući energiju u obliku svjetlosti. Otpuštena svjetlost se može zatim koristiti za mjerenje željenog analita.

4.4. Statističke metode

Prikupljeni podaci, odnosno koncentracije, prikazane su u standardnim mjernim jedinicama za ispitivane spojeve. Za statističku obradu korišten je R programski jezik (v4.2.0; R Core Team 2022). Procjena značajnosti između parametara provedena je analizom operacijskih svojstava primatelja (engl. *reciever operating characteristic* (ROC)). Analize distribucije prikazane su (engl.) *Box and Whisker* grafovima dok se za analizu povezanosti između parametara, kada parametri nisu normalno distribuirani, koristio Mann-Whitney U test. Također je korišten Microsoft Excel 2016 (Microsoft Office 365, USA) za dobivanje grafičkog prikaza korelacija između pojedinih parametara. Razina značajnosti postavljena je na $p < 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Udjeli izmjerenih parametara kod žena sa PCOS-om

Istraživanje je provedeno na uzorku od 100 ispitanika, pri čemu su sve bile žene. Dob pacijentica uključenih u istraživanje je između 18. i 44. godine. Referentne vrijednosti korištene u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Osijek, za mjerene parametre iznose: testosteron: 0,07 – 1,56 nmol/l, slobodni testosteron: 0,5 – 2,0 % i SHBG: 19,8 – 155,2 nmol/L.

Tablica 1. Hormonski status pacijentica sa PCOS-om u postotcima

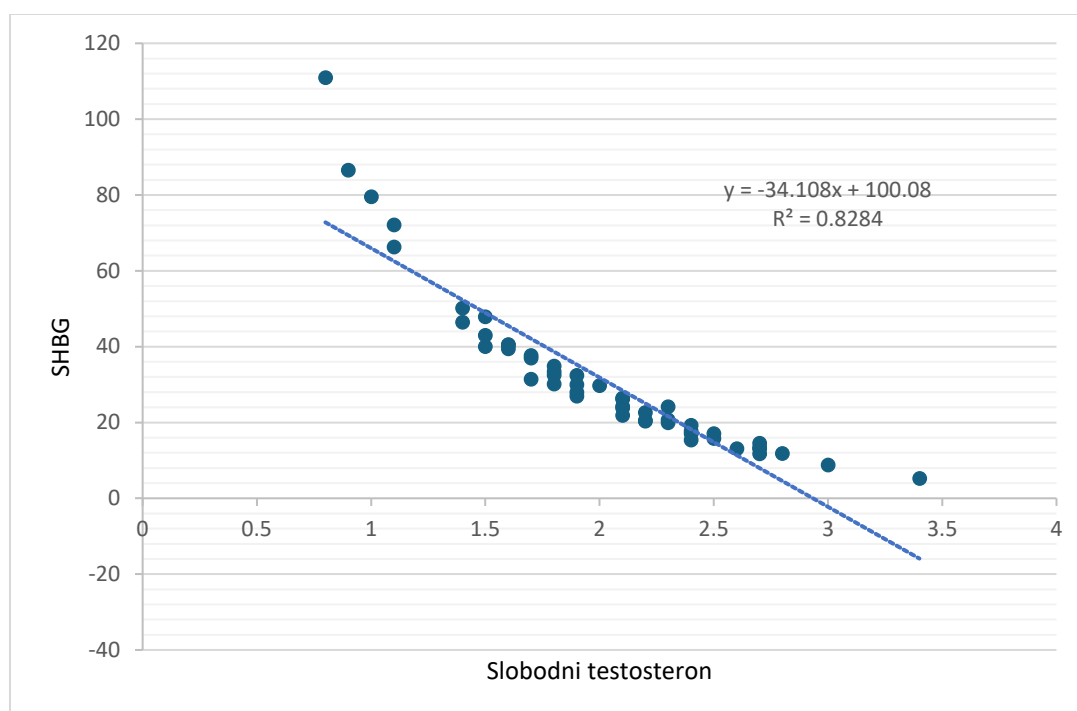
Parametar	Kategorija	Postotak
Testosteron	Normalan	58 %
	Povišen	42 %
	Ukupno	100 %
Slobodni testosteron	Normalan	48 %
	Povišen	52 %
	Ukupno	100 %
SHBG *	Normalan	74 %
	Sniženi	26 %
	Ukupno	100 %

* globulin koji veže spolne hormone

Značajan udio pacijentica imao je povišen testosteron, dok je udio povišenog slobodnog testosterona iznosio 52 %. Također je zabilježen sniženi udio SHBG-a kod manjeg broja pacijentica.

5.2. Korelacije parametara

Slika 1. Grafički prikaz korelacije između slobodnog testosterona i globulina koji veže spolne hormone (SHBG)



Može se uočiti jasna negativna korelacija između SHBG-a i slobodnog testosterona (Slika 1.). Grafički prikazi korelacija između slobodnog testosterona i testosterona te SHBG-a i testosterona su izostavljeni s obzirom na to da nije bilo nikakvih korelacija.

5.3. Rezultati analize povezanosti između parametara

Tablica 2. p-vrijednosti biokemijskih parametara ($p < 0,05$)

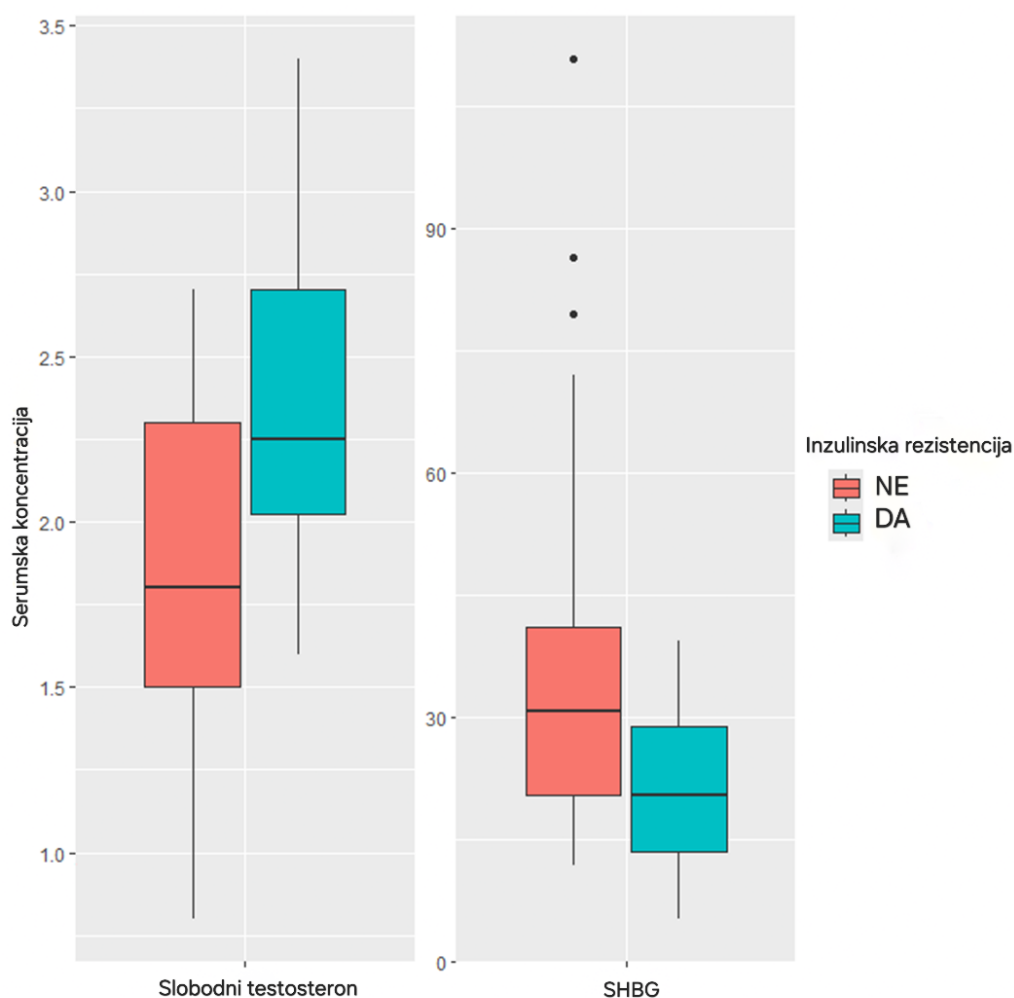
Parametar	p-vrijednosti			
	PCOS * vs bez PCOS-a	hirzutizam vs bez hirzutizma	inzulinska rezistencija vs bez inzulinske rezistencije	debljina vs bez debljine
Testosteron	<0,001	0,407	0,280	0,610
Slobodni testosteron	<0,001	0,114	0,006	0,002
SHBG †	<0,001	0,134	0,012	0,002

* sindrom policističnih ovarija; † globulin koji veže spolne hormone

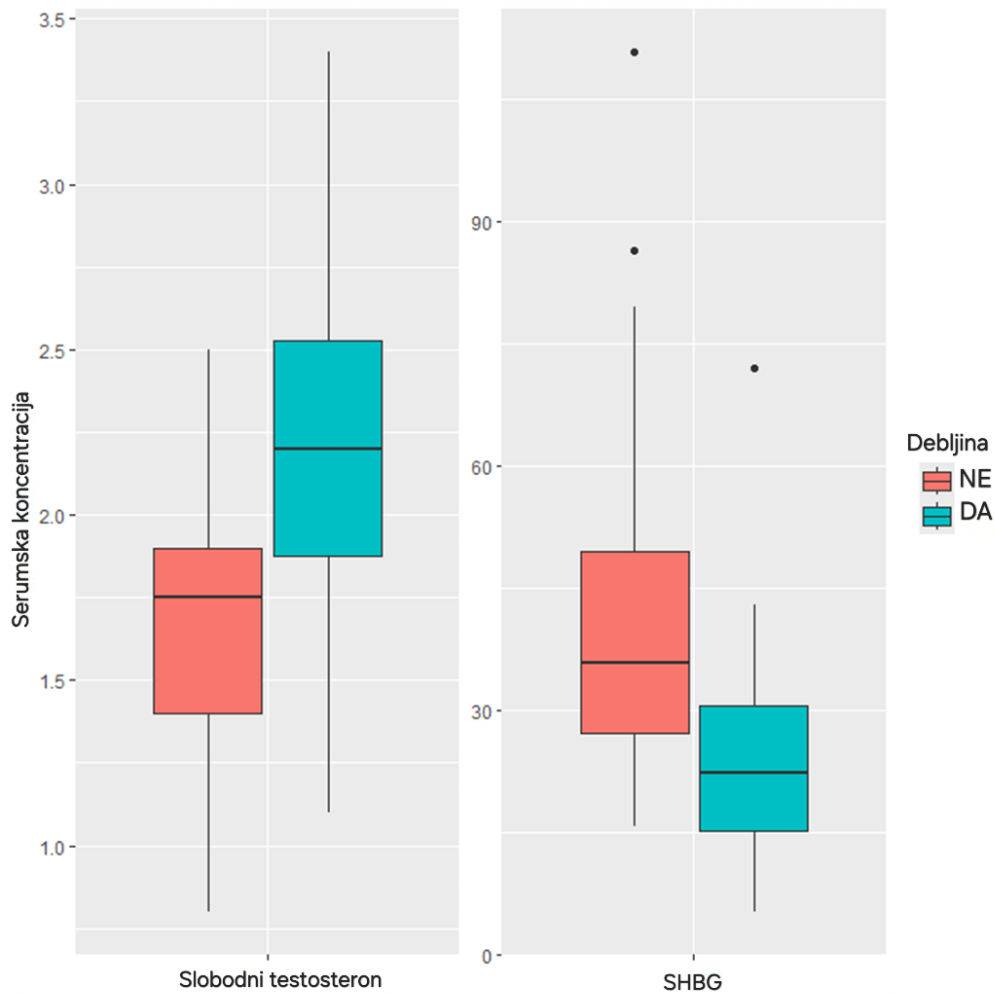
Tablica prikazuje p-vrijednosti dobivene usporedbama koncentracija biokemijskih parametara između skupine pacijentica sa PCOS-om te kontrolne skupine, kao i p-vrijednosti za usporedbu različitih kliničkih simptoma među pacijenticama s PCOS-om. Uočene su statistički značajne razlike između pacijentica sa PCOS-om i kontrolne skupine u sva tri mjerena parametra. Za hirutizam nije pronađeno značajnih statističkih razlika. Također su p-vrijednosti pokazale da slobodni testosteron i SHBG imaju značajnu korelaciju s inzulinskom rezistencijom te debljinom.

5.4. Distribucije podataka

Slika 2. Prikaz distribucije podataka slobodnog testosterona i globulina koji veže spolne hormone (SHBG) između žena sa PCOS-om na temelju statusa inzulinske rezistencije



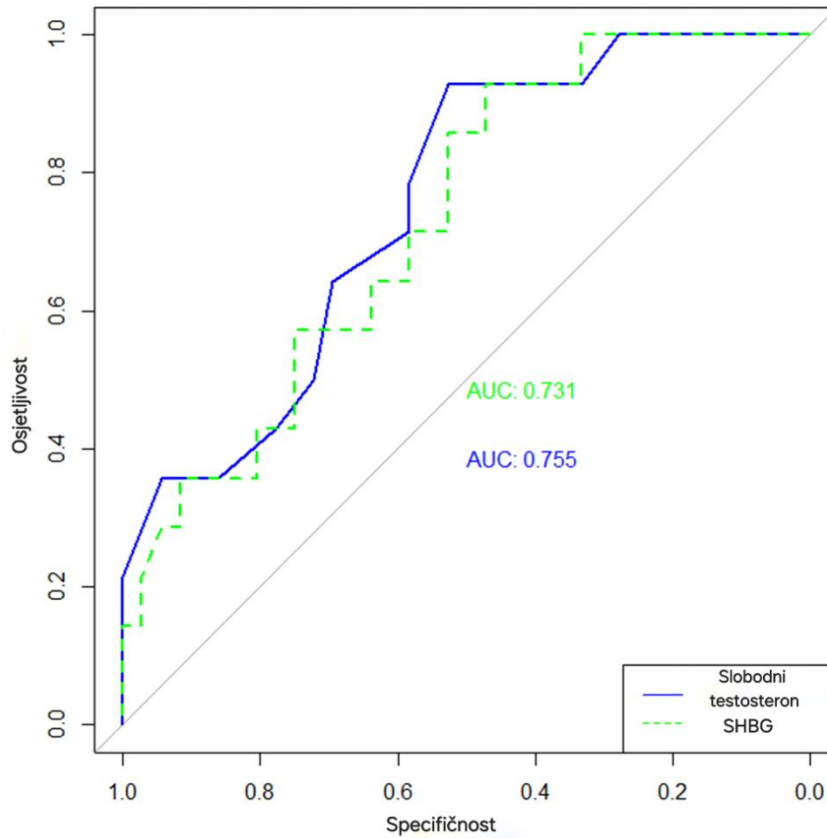
Slika 3. Prikaz distribucije podataka slobodnog testosterona i globulina koji veže spolne hormone (SHBG) između žena sa PCOS-om na temelju statusa debljine



Iz grafičkog prikaza distribucije podataka može se uočiti da pacijentice s IR-om imaju povišene razine slobodnog testosterona i značajno niže razine SHBG-a u usporedbi s pacijenticama bez IR-je (Slika 2.). Također se može primijetiti kako pacijentice s debljinom imaju više razine slobodnog testosterona, dok SHBG pokazuje više razine kod pacijentica bez debljine kao i veću varijabilnost u njegovim razinama (Slika 3.).

5.5. ROC analiza

Slika 4. Grafički prikaz procjene značaja slobodnog testosterona i globulina koji veže spolne hormone (SHBG) kao biomarkera u dijagnostici inzulinske rezistencije



Iz prikazane ROC krivulje vidljivo je kako su slobodni testosteron i SHBG razumni prediktori inzulinske rezistencije kod pacijentica sa PCOS-om. No, slobodni testosteron pokazuje nešto bolje rezultate na temelju površine ispod krivulje (AUC). Također, slobodni testosteron na većini graničnih vrijednosti pokazuje dobru ravnotežu između osjetljivosti i specifičnosti.

6. RASPRAVA

U ovome istraživanju provedena je analiza razina steroidnih hormona, odnosno testosterona i slobodnog testosterona kao i proteina SHBG-a u dvije skupine: 50 žena sa PCOS-om te 50 žena bez dijagnoze PCOS-a. Također su se istražile veze između razina navedenih biokemijskih parametara i čestih stanja u PCOS-u, odnosno hirsutizma, IR-je i debljine.

Kada govorimo o izmjerenim razinama navedenih hormona u serumu, značajan udio pacijentica sa PCOS-om je pokazao povišene razine testosterona i slobodnog testosterona. Povišeni udjeli su u skladu s karakterističnom pojavom biokemijskog HA-a kod žena u PCOS-u, što je opisano i u ranijim studijama (27). Činjenica da je više od pola pacijentica sa PCOS-om pokazalo povišene razine slobodnog testosterona naglašava važnost mjerenja ovog hormona u praćenju steroidnog hormonskog profila (9). Razine SHBG-a bile su snižene kod manjeg udjela pacijentica, čime se potvrđuje mogućnost niskih koncentracija SHBG-a u PCOS-u (11).

Između slobodnog testosterona i SHBG-a utvrđena je jasna negativna korelacija, što potvrđuje fiziološko shvaćanje uloge SHBG-a. Odnosno, niže razine SHBG-a dovode do povećanja biološki aktivne frakcije testosterona, čime se pogoršava HA kod PCOS-a. HA zatim može utjecati na dodatno sniženje razina SHBG-a, čineći ciklus povratnih spregi koje pogoršavaju simptome PCOS-a (13).

Daljnjom analizom potvrdile su se značajne razlike razina testosterona, slobodnog testosterona i SHBG-a između PCOS skupine i kontrolne skupine žena što je u skladu s postavljenom hipotezom. Druga istraživanja, koja su također sadržavala kontrolnu skupinu, došla su do istih zaključaka (28). Ovi rezultati također su u skladu s postavljenim Rotterdamskim kriterijima, čija je ključna komponenta pojava HA-a među pacijenticama sa PCOS-om. Značajne razlike u razinama SHBG-a između ove dvije skupine mogu značiti potrebu da se uz mjerenje standardnog steroidnog panela uvijek uključi i mjerenje razina SHBG-a.

Ovim istraživanjem je pokazano da razine ni jednog od izmjerenih parametara nemaju statistički značajnu povezanost s hirsutizmom kod PCOS-a. No slobodni testosteron pokazuje značajniju povezanost u usporedbi s testosteronom, što može objasniti sama činjenica da je slobodan testosteron biološki aktivan te više pridonosi nastanku hirsutizma (9). U drugim studijama istaknuto je kako težina samog hirsutizma nema značajnosti s biokemijskim HA-om (14).

Rezultati dobiveni ovim istraživanjem pokazuju značajnu poveznicu između povišenih razina slobodnog testosterona, sniženih razina SHBG-a i debljine kod žena sa PCOS-om. Poznato je kako je debljina često povezana uz IR-ju, čija prisutnost može utjecati na androgene izravno, poticanjem sinteze u ovarijima ili neizravno, inhibiranjem sinteze SHBG-a. Ova inhibicija rezultira sniženim razinama SHBG-a, dovodeći do povećanih razina slobodnog testosterona. Biološki aktivniji oblik testosterona zatim, može imati utjecaj na povećano nakupljanje visceralne masti (13,18,19). Ovi odnosi su bitni jer stavljaju naglasak na adiponektin. Kod debljine, kao i kod PCOS-a dolazi do sniženih razina adiponektina, koje zatim mogu pogoršati IR-ju te time pridonijeti i HA-u. Ovo dovodi do mogućnosti da bi se terapijskim ciljanjem razina adiponektina moglo pomoći u smanjenju simptoma PCOS-a. Dosadašnja istraživanja pokazala su da adiponektin može spriječiti štetne promjene u funkciji masnog tkiva, te se korištenjem miševa s povećanim razinama adiponektina dokazalo da ovaj hormon ima zaštitnu ulogu od razvoja IR-je (29). No, daljnja istraživanja su potrebna kako bi se razmotrile terapijske mogućnosti koje ciljaju na razine adiponektina.

Značajan odnos između slobodnog testosterona, SHBG-a i IR-je potvrđuje kako su ovi parametri usko povezani s metaboličkim čimbenicima kod PCOS-a te su odnosi između istih navedeni u prethodnim opisima same patofiziologije sindroma (13,19). ROC analiza pružila je dodatne dokaze da se slobodni testosteron i SHBG mogu koristiti kao biomarkeri za dijagnostiku IR-je u PCOS-u. Uvođenjem ovih biomarkera u dijagnostiku IR-je uz sam HOMA-IR moglo bi doći do povećane pouzdanosti dijagnosticiranja te bi same razine ovih biomarkera bolje ukazivale na metabolički status pacijentica sa PCOS-om.

7. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Značajan udio žena s PCOS-om pokazao je povišene razine testosterona i slobodnog testosterona.
2. Razine SHBG bile niže u skupini pacijentica s PCOS-om.
3. Žene sa PCOS-om imaju povišene razine testosterona, slobodnog testosterona uz snižene razine SHBG-a što se značajno razlikuje od žena bez PCOS-a.
4. Nije pronađena statistički značajna povezanost između izmjerenih parametara i hirsutizma kod PCOS-a.
5. Dokazana je značajna veza između povišenog slobodnog testosterona, smanjene razine SHBG i pretilosti kod pacijentica s PCOS-om.
6. Slobodni testosteron i SHBG mogu služiti kao korisni biomarkeri za dijagnosticiranje IR-je kod PCOS-a.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Ispitati povezanost razina testosterona, slobodnog testosterona i globulina koji veže spolne hormone (SHBG) između žena sa dijagnozom sindroma policističnih ovarija (PCOS) i kontrolne skupine.

Nacrt studije: Opservacijska studija.

Ispitanici i metode: U istraživanje je bilo uključeno 50 žena sa dijagnozom PCOS-a i 50 žena bez dijagnoze PCOS-a, u dobi od 18. do 44. godine. Provedeno je pretraživanjem laboratorijskog informacijskog sustava (LIS) i bolničkog informacijskog sustava (BIS) u razdoblju od 2021. do 2023. godine. Svi značajni podatci, odnosno koncentracije parametara i prisutnost određenih kliničkih simptoma su uneseni u Excel tablicu.

Rezultati: Povišene razine testosterona i slobodnog testosterona, uz snižene razine SHBG-a, zabilježene su kod žena s PCOS-om, te se razine ovih parametara razlikuju kod žena bez PCOS-a. U PCOS skupini uočeno je da pacijentice s debljinom i inzulinskom rezistencijom (IR) imaju povišene razine slobodnog testosterona i snižene razine SHBG-a. Kod pacijentica u PCOS skupini sa hirutizmom i bez hirutizma nije bilo razlika u razinama ovih parametara.

Zaključak: Žene sa PCOS-om imaju povišene razine testosterona, slobodnog testosterona uz snižene razine SHBG-a što se značajno razlikuje od žena bez PCOS-a. Nije pronađena statistički značajna povezanost između ovih parametara i hirutizma, ali je dokazana veza između povišenog slobodnog testosterona, smanjene razine SHBG i pretilosti. Slobodni testosteron i SHBG mogu poslužiti kao korisni biomarkeri za dijagnosticiranje IR-je kod PCOS-a.

Ključne riječi: debljina, inzulinska rezistencija, sindrom policističnih ovarija, steroidni hormon, testosteron

9. SUMMARY

Analysis of the level of steroid hormones in the serum of patients with polycystic ovary syndrome

Objectives: To examine the relationship between levels of testosterone, free testosterone, and sex hormone binding globulin (SHBG) in women diagnosed with polycystic ovary syndrome (PCOS) and a control group.

Study Design: Observational study.

Participants and methods: The study included 50 women diagnosed with PCOS and 50 women without a PCOS diagnosis, aged between 18 and 44 years. It was conducted by searching Laboratory Information System (LIS) and Hospital Information System (HIS) databases from 2021 to 2023. All significant data, including concentrations of parameters and the presence of certain symptoms, were recorded in an Excel table.

Results: Elevated levels of testosterone and free testosterone, along with decreased levels of SHBG, were recorded in women with PCOS, and these parameter levels differed from those in women without PCOS. Within the PCOS group, it was observed that patients with obesity and insulin resistance (IR) had elevated levels of free testosterone and decreased levels of SHBG. Patients in the PCOS group, both with and without hirsutism showed no differences in these parameters.

Conclusion: Women with PCOS have elevated levels of testosterone and free testosterone, along with decreased levels of SHBG, which significantly differ from those in women without PCOS. No statistically significant association was found between these parameters and hirsutism, but a connection between elevated free testosterone, reduced SHBG levels, and obesity was established. Free testosterone and SHBG may serve as useful biomarkers for diagnosing IR in PCOS.

Keywords: insulin resistance, obesity, polycystic ovary syndrome, steroid hormone, testosterone

10. LITERATURA

1. Barrea L, Frias-Toral E, Verde L, Ceriani F, Cucalón G, Garcia-Velasquez E i sur. PCOS and nutritional approaches: Differences between lean and obese phenotype. *Metab Open*. 2021;12:100123.
2. De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, Massaro MG, Morgante G, Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS: an update. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016;14(1):38.
3. McCartney CR, Campbell RE, Marshall JC, Moenter SM. The role of gonadotropin-releasing hormone neurons in polycystic ovary syndrome. *J Neuroendocrinol*. 2022;34(5):e13093.
4. Szeliga A, Rudnicka E, Maciejewska-Jeske M, Kucharski M, Kostrzak A, Hajbos M i sur. Neuroendocrine determinants of polycystic ovary syndrome. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(5):3089.
5. Christ JP, Cedars MI. Current guidelines for diagnosing PCOS. *Diagnostics*. 2023;13(6):1113.
6. Wang K, Li Y, Chen Y. Androgen excess: a hallmark of polycystic ovary syndrome. *Front Endocrinol*. 2023;14:1273542.
7. Ding H, Zhang J, Zhang F, Zhang S, Chen X, Liang W i sur. Resistance to the insulin and elevated level of androgen: A major cause of polycystic ovary syndrome. *Front Endocrinol*. 2021; 12:741764.
8. Li H, Pham T, McWhinney BC, Ungerer JP, Pretorius CJ, Richard DJ i sur. Sex Hormone Binding Globulin modifies testosterone action and metabolism in prostate cancer cells. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:1–10.
9. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The evaluation and treatment of androgen excess. *Fertil Steril*. 2006;86(5):S241–S247.
10. Qu X, Donnelly R. Sex hormone-binding globulin (SHBG) as an early biomarker and therapeutic target in polycystic ovary syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8191.
11. Guo X, Chen L, He J, Zhang X, Xu S. Genetically predicted high sex hormone binding globulin was associated with decreased risk of polycystic ovary syndrome. *BMC Womens Health*. 2024;24(1):357.

12. Túű L, Nas K, Török M, Várbió S. SHBG levels do not correlate with insulin levels in PCOS with appropriate fasting insulin sensitivity. *J Clin Med.* 2024;13(3):838.
13. Xing C, Zhang J, Zhao H, He B. Effect of sex hormone-binding globulin on polycystic ovary syndrome: Mechanisms, manifestations, genetics, and treatment. *Int J Womens Health.* 2022;14:91–105.
14. Spritzer PM, Marchesan LB, Santos BR, Fighera TM. Hirsutism, normal androgens and diagnosis of PCOS. *Diagnostics.* 2022;12(8):1922.
15. Grymowicz M, Rudnicka E, Podfigurna A, Napierala P, Smolarczyk R, Smolarczyk K i sur. Hormonal effects on hair follicles. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):5342.
16. Cebeci F, Onsun N, Mert M. Insulin resistance in women with hirsutism. *Arch Med Sci.* 2012;8(2):342-346.
17. Zhao H, Zhang J, Cheng X, Nie X, He B. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome across various tissues: an updated review of pathogenesis, evaluation, and treatment. *J Ovarian Res.* 2023;16(1):9.
18. Dupont J, Scaramuzzi RJ. Insulin signalling and glucose transport in the ovary and ovarian function during the ovarian cycle. *Biochem J.* 2016;473(11):1483-1501.
19. Unluhizarci K, Karaca Z, Kelestimur F. Role of insulin and insulin resistance in androgen excess disorders. *World J Diabetes.* 2021;12(5):616-629.
20. Diniz M de FHS, Beleigoli AMR, Schmidt MI, Duncan BB, Ribeiro ALP, Vidigal PG i sur. Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and metabolic syndrome at baseline of a multicentric Brazilian cohort: ELSA-Brasil study. *Cad Saude Publica.* 2020;36(8):e00072120.
21. Fruh SM. Obesity: Risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. *J Am Assoc Nurse Pract.* 2017;29(S1):S3–S14.
22. Aggarwal M, Chakole S. Prevalence of polycystic ovarian syndrome and its link to obesity in adolescent girls. *Cureus.* 2023;15(9):e45405.
23. Patil S, Veerabhadra Goud GK, Shivashankar RN, Anusuya SK, Ganesh V. Association of adiponectin levels with polycystic ovary syndrome among Indian women. *Bioinformation.* 2022;18(10):864-869.

24. Gill L, Coborn JE, Hoovler AR, Sherif K. Polycystic Ovary Syndrome and Obesity: A Cross-Sectional Survey of Patients and Obstetricians/Gynecologists. *J Womens Health*. 2023;32(6):723-731.
25. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H i sur. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002;51(9):2734-2741.
26. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(10):3666-3672.
27. Abdelazim I, Alanwar A, AbuFaza M, Amer O, Bekmukhambetov Y, Zhurabekova G i sur. Elevated and diagnostic androgens of polycystic ovary syndrome. *Prz Menopauzalny*. 2020;19(1):1-5.
28. Jayagopal V, Kilpatrick ES, Jennings PE, Hepburn DA, Atkin SL. The biological variation of testosterone and sex hormone-binding globulin (SHBG) in polycystic ovarian syndrome: implications for SHBG as a surrogate marker of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(4):1528-1533.
29. Benrick A, Chanclón B, Micallef P, Wu Y, Hadi L, Shelton JM i sur. Adiponectin protects against development of metabolic disturbances in a PCOS mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(34):E7187-E7196.

11. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Petra Gotovac

Datum i mjesto rođenja: 24.3.2003., Vinkovci

Adresa stanovanja: Kolodvorska 42, 32284, Stari Mikanovci

E-mail: petra.gotovac335@gmail.com

Kontakt: 097/701-6296

Obrazovanje:

2009. – 2017. Osnovna škola Stjepana Cvrkovića, Stari Mikanovci

2017. – 2021. Jezična gimnazija Matije Antuna Reljkovića, Vinkovci

2021. – 2024 Medicinski fakultet Osijek, Sveučilišni prijediplomski studij Medicinsko
laboratorijska dijagnostika

Članstva:

Hrvatska udruga studenata medicinsko laboratorijske dijagnostike (CMLDSA),
potpredsjednica udruge

Hrvatska udruga laboratorijske medicine (HULM)

12. PRILOZI

Prilog 1. Prikaz Excel tablice sa svim prikupljenim koncentracijama biokemijskih parametara i kliničkih simptoma u skupini žena sa PCOS-om.

Prilog 2. Prikaz Excel tablice sa svim prikupljenim koncentracijama biokemijskih parametara u kontrolnoj skupini.

Prilog 1. Prikaz Excel tablice sa svim prikupljenim koncentracijama biokemijskih parametara i kliničkih simptoma u skupini žena sa PCOS-om

PCOS *				Klinički simptomi		
Broj pacijentice	Testosteron (nmol/l)	Slobodni testosteron (%)	SHBG † (nmol/L)	Hirzutizam	Inzulinska rezistencija	Debljina
1	1.14	1.4	46.4			
2	0.62	1.6	40.4			
3	2.21	1.7	36.9			
4	2.37	1.6	40.5			+
5	2.45	2.7	11.7			+
6	1.9	1.6	39.4		+	+
7	3.61	1.9	32.4	+	+	+
8	2.39	1.5	40			+
9	0.63	2.4	17			
10	0.71	2.8	11.8		+	+
11	1.74	0.9	86.5			
12	2.04	0.8	111			
13	1.71	2.6	13			+
14	0.62	2.1	26.1			+
15	2.47	1.5	42.9	+		+
16	1.4	2.4	17.7		+	
17	1.17	2.3	19.9			+
18	2.63	2.2	20.3	+	+	+
19	1.27	2.2	20.5		+	+
20	1.54	1.8	34.8			
21	1.86	2.3	24.1		+	+
22	1.42	2.7	13.3	+		+
23	2.79	1.4	50.1			
24	1.11	1.8	30.1			+
25	0.89	1.9	27.9			

PCOS *				Klinički simptomi		
Broj pacijentice	Testosteron (nmol/l)	Slobodni testosteron (%)	SHBG † (nmol/L)	Hirzutizam	Inzulinska rezistencija	Debljina
26	4.05	1.5	47.8			
27	0.87	2	29.7		+	+
28	1.95	2.1	23.8			
29	1.25	3	8.7	+	+	+
30	1.25	2.1	24.2			+
31	1.46	1.1	66.2			
32	0.61	2.1	26.4		+	+
33	1.72	2.2	22.6			+
34	2.07	1.8	32.5	+		
35	0.81	2.3	20.6	+		+
36	2.35	2.7	14.5	+	+	+
37	0.89	2.5	15.7			
38	0.66	3.4	5.2	+	+	+
39	0.61	1.9	29.9		+	+
40	1.18	2.4	15.3	+		+
41	2.09	1.9	26.9			
42	2.78	1.7	37.6			+
43	0.67	2.4	19.2			+
44	1.5	2.1	21.8			+
45	0.55	2.7	13		+	+
46	1.63	1.1	72.1			+
47	1.53	2.5	17			+
48	1.16	1.8	33.4			
49	1.08	1.7	31.4			+
50	0.94	1	79.5	+		

* sindrom policističnih ovarija; † globulin koji veže spolne hormone

Prilog 2. Prikaz Excel tablice sa svim prikupljenim koncentracijama biokemijskih parametara u kontrolnoj skupini

KONTROLNA			
Broj pacijentice	Testosteron (nmol/l)	Slobodni testosteron (%)	SHBG * (nmol/L)
1	1.25	1.2	57.6
2	0.54	1.2	61.8
3	0.9	1.4	44.5
4	1.59	1	80.6
5	0.9	0.9	93.2
6	1.31	1.1	69.4
7	1.55	1.2	58.8
8	0.83	1.1	65.4
9	0.62	1.5	44.8
10	0.74	1.7	32.7
11	1.12	1.4	47.3
12	1.13	0.7	116
13	0.81	0.7	112
14	0.78	1	79.2
15	0.77	1	80.2
16	1.08	1	75.2
17	0.51	1.2	64
18	0.56	1.6	36.9
19	0.98	1.2	59.1
20	1.51	1.5	43.9
21	1.53	1.3	53.1
22	0.85	1.8	31.3
23	1.16	1.5	41.8
24	0.88	1.8	31.3
25	0.93	1.8	32.8
26	0.95	1.2	60
27	0.87	1.2	60.7
28	1.3	0.9	89.3

KONTROLNA			
Broj pacijentice	Testosteron (nmol/l)	Slobodni testosteron (%)	SHBG * (nmol/L)
29	0.44	1.4	48.5
30	1.4	0.8	102
31	1.17	1.2	61.1
32	1.1	1.9	27.8
33	0.54	1.9	26.6
34	0.77	1.1	64.6
35	0.79	1.1	69.5
36	1	1.1	66.3
37	1.18	1.3	50.6
38	0.89	1.4	50.1
39	0.81	1.1	69.2
40	1.2	0.9	84
41	1.05	1.8	32.4
42	1.21	1.2	58.3
43	1.49	1	72.2
44	1.44	1.1	66.8
45	0.89	1.2	57.7
46	0.92	1.4	46.5
47	0.66	1.1	71.6
48	1.19	1.2	56.6
49	0.95	1.8	34
50	0.99	0.8	105

* globulin koji veže spolne hormone