

# Povezanost intermenstruacijskog raspona i metaboličkih obilježja u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika

---

**Alebić, Miro Šimun**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2014**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:202269>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-31**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET

Miro Šimun Alebić

Povezanost intermenstruacijskog raspona i metaboličkih obilježja u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika

Doktorska disertacija

Osijek, 2014. godine

Mentor rada: prof.dr.sc. Siniša Šijanović, dr.med

Komentor rada: prof.dr.sc. Lea Smirčić Duvnjak, dr.med.

Rad ima 55 listova.

Rad je izrađen na Odjelu za humanu reprodukciju Klinike za ženske bolesti i porode i u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu Kliničke bolnice „Merkur“

Svima koji su me motivirali...

# SADRŽAJ

<b>1. Uvod</b>	<b>1</b>
1.1. Dijagnoza sindroma policističnih jajnika	1
1.1.1. Oligoovulacija i/ili anovulacija	3
1.1.2. Hiperandrogenizam	4
1.1.3. Policistična morfologija jajnika	5
1.1.4. Fenotipske podskupine PCOS-a koje proizlaze iz ESHRE/ASRM definicije	5
1.2. Metabolički poremećaji povezani sa sindromom policističnih jajnika	6
1.2.1. Inzulinska rezistencija u sindromu policističnih jajnika	6
1.2.2. Poremećaj metabolizma lipida u sindromu policističnih jajnika	9
1.3. Nehiperandrogeni PCOS	12
<b>2. Cilj rada</b>	<b>16</b>
<b>3. Ispitanici i metode</b>	<b>17</b>
3.1. Ustroj istraživanja	17
3.2. Ispitanice	17
3.2.1. Kriteriji za uključivanje ispitanica u istraživanje	17
3.2.2. Kriteriji za neuključenje ispitanica u istraživanje	17
3.2.3. Skupine	18
3.2.4. Uzorak	18
3.2.5. Definicije	18
3.3. Metode	19
3.3.1. Prikupljanje anamnestičkih podataka	19
3.3.2. Antropometrijska mjerenja	19
3.3.3. Laboratorijske analize	20
3.3.4. Transvaginalni ultrazvučni pregled	20
3.3.5. Obilježja metaboličkog statusa	21
3.3.6. Statistička obrada podataka	22
<b>4. Rezultati</b>	<b>23</b>
4.1. Obilježja studijske skupine	23

4.2. Povezanost intermenstruacijskog raspona s metaboličkim obilježjima	24
4.3. Utjecaj arbitrarnih definicija oligo- i/ili amenoreje na razdiobu ispitanica u studijskoj skupini	25
4.4. Vrijednost intermenstruacijskog raspona u identifikaciji nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i biljezima nepovoljnog metaboličkog statusa	25
4.5. Metabolička obilježja nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika nakon podjele u skupine prema optimalnoj vrijednosti intermenstruacijskog raspona za diskriminaciju prema metaboličkom statusu	29
4.6. Usporedba metaboličkih obilježja različitih fenotipova PCOS-a	34
<b>5. Rasprava</b>	<b>38</b>
<b>6. Zaključci</b>	<b>43</b>
<b>7. Sažetak</b>	<b>44</b>
<b>8. Summary</b>	<b>46</b>
<b>9. Literatura</b>	<b>48</b>
<b>10. Životopis</b>	<b>56</b>

## POPIS SKRAĆENICA

PCOS.....	sindrom policističnih jajnika
IR .....	inzulinska rezistencija
ESHRE .....	Europsko udruženje za humanu reprodukciju i embriologiju
ASRM.....	Američko udruženje za reproduktivnu medicinu
OA.....	oligoovulacija i/ili anovulacija
HA.....	hiperandrogenizam
PCOM.....	policistična ovarijska morfologija
IMR.....	intermenstruacijski raspon
OAM.....	oligomenoreja i/ili amenoreja
HA-PCOS.....	hiperandrogeni fenotipovi PCOS-a
neHA-PCOS.....	nehiperandrogeni oligo/anovulatorne žene s policističnom morfologijom jajnika
PCOM-CTRL.....	nehiperandrogene, normoovulatorne žene s policističnom morfologijom jajnika
neHA-PCOM.....	nehiperandrogene žene s policističnom morfologijom jajnika
CTRL.....	nehiperandrogene, normoovulatorne žene s urednom morfologijom jajnika
PCOS A.....	hiperandrogeni, oligo/anovulatorni fenotip PCOS-a s policističnom morfologijom jajnika
PCOS B.....	hiperandrogeni, oligo/anovulatorni fenotip PCOS-a s urednom morfologijom jajnika
PCOS C.....	hiperandrogeni, normoovulatorni fenotip PCOS-a s policističnom morfologijom jajnika
PCOS D.....	nehiperandrogeni, oligo/anovulatorni fenotip PCOS-a s policističnom morfologijom jajnika
HOMA-IR.....	homeostatski model za procjenu inzulinske rezistencije
TG.....	serumska koncentracija triglicerida
TC.....	serumska koncentracija ukupnog kolesterola
LDL-C.....	koncentracija kolesterola u razredu lipoproteina male gustoće
HDL- C.....	koncentracija kolesterola u razredu lipoproteina velike gustoće

# 1. UVOD

## 1.1 Dijagnoza sindroma policističnih jajnika

Sindrom policističnih jajnika (*engl.* polycystic ovarian syndrome, PCOS) je najčešći endokrinološki poremećaj žena reproduktivne dobi s prevalencijom 4-18%, ovisno o obilježjima populacije uključene u istraživanje i upotrebljenim dijagnostičkim kriterijima (Tablica 1.1.) (1,2,3).

Uz neplodnost, moguće kliničke manifestacije PCOS-a su:

- poremećaji ovulacije i menstruacijskog ciklusa
- akne
- debljina
- povećana dlakavost lica i tijela
- policistična morfologija jajnika
- psihički problemi (anksioznost, depresija).

Općenito, **žene koje imaju PCOS** se povezuje s većim reproduktivnim (hiperandrogenemija, hirzutizam, poremećaji ovulacije i menstruacijskog ciklusa, neplodnost, pobačaji, gestacijska šećerna bolest), metaboličkim (debljina, osobito androidnog tipa, inzulinska rezistencija (IR), metabolički sindrom, dislipidemija, poremećena tolerancija glukoze, šećerna bolest tipa 2), kardiovaskularnim i onkološkim (karcinom endometrija) rizicima u odnosu na žene koje nemaju PCOS (3,4,5,6,7).

Kliničkim manifestacijama PCOS-a i s njime povezanim kratkoročnim i dugoročnim zdravstvenim rizicima (šećerna bolest tip 2, kardiovaskularne bolesti) pridonose etnička pripadnost, rasa, geografsko područje i okolišni čimbenici (prehrana, fizička aktivnost) (8). Upravo su dugoročni zdravstveni rizici posljednjih godina potaknuli veliki interes istraživačke zajednice za PCOS.

Kao sindrom, i PCOS predstavlja skup simptoma i obilježja pa se dijagnoza ne može postaviti pojedinačnim dijagnostičkim testom.

Posljednjih 25 godina, različite kombinacije nekih od navedenih simptoma i znakova su korištene kao kriteriji za dijagnozu PCOS-a (Tablica 1.1.).



Tablica 1.1. Definicije PCOS-a

**NIH 1990 definicija (9)**

1. Kronična anovulacija
2. Klinički i/ili biokemijski znakovi hiperandrogenizma
  - isključenje drugih etiologija sa sličnom kliničkom prezentacijom
  - uvjet za dijagnozu je ispunjavanje najmanje dva kriterija

**ESHRE/ASRM 2003 definicija (10)**

1. Oligoovulacija i/ili anovulacija
2. Klinički i/ili biokemijski znakovi hiperandrogenizma
3. Policistični jajnici (ultrazvuk)
  - isključenje drugih etiologija sa sličnom kliničkom prezentacijom
  - uvjet za dijagnozu je ispunjavanje najmanje dva kriterija

**AES 2006 definicija (11)**

1. Hiperandrogenizam: hirsutizam i/ili hiperandrogenemija
2. Disfunkcija jajnika: oligo/anovulacija i/ili policistični jajnici (ultrazvuk)
  - isključenje drugih etiologija sa sličnom kliničkom prezentacijom
  - uvjet za dijagnozu je ispunjavanje oba kriterija

NIH 1990 definicija – definicija PCOS-a prema američkom Nacionalnom institutu za zdravlje; ESHRE/ASRM 2003 – definicija PCOS-a prema konsenzusu Europskog društva za humanu reprodukciju i embriologiju i Američkog društva za reprodukciju medicinu; AES 2006 definicija – definicija PCOS-a prema američkom Društvu za višak androgena i sindrom policističnih jajnika.

Nedavno je međunarodna stručna skupina preporučila korištenje ESHRE/ASRM 2003 definicije, uz obveznu identifikaciju fenotipova. (Tablica 1.2.) (12).

Prema toj definiciji, temeljenoj na konsenzusu o dijagnostičkim kriterijima i dugoročnim zdravstvenim rizicima PCOS-a koji su 2003. godine postigli Europsko udruženje za humanu reprodukciju i embriologiju (ESHRE) i Američko udruženje za reprodukciju medicinu (ASRM) za dijagnozu PCOS-a potrebno je utvrditi prisutnost barem dva od tri sljedeća obilježja:

1. oligoovulaciju i/ili anovulaciju (OA),
2. klinički i/ili biokemijski hiperandrogenizam (HA),
3. policističnu morfoloiju jajnika (PCOM),

te isključiti ostale endokrinološke uzroke hiperandrogenizma i oligoovulacije i/ili anovulacije (kongenitalna adrenalna hiperplazija, tumori koji izlučuju androgene, Cushingov sindrom) (10).

### **1.1.1. Oligoovulacija i/ili anovulacija**

Poremećaji ovulacije, oligoovulacija i/ili anovulacija se klinički mogu prezentirati kao poremećaji menstruacijskog ciklusa odnosno oligomenoreja i/ili amenoreja te kao genitalno krvarenje. Osim toga, mogu se manifestirati i subklinički, bez očitih poremećaja regularnosti menstruacijskog ciklusa (11).

Iz toga proizlazi da, kao kriterij za definiciju PCOS-a prema ESHRE/ASRM 2003, OA nije precizno definirana tj. nije jasno može li se definirati kao smanjenu pojavnost ovulacije u nekoliko uzastopnih ciklusa, ne uzimajući pri tom u obzir intermenstrucijski raspon ili kao smanjeni broj menstruacijskih ciklusa u određenom vremenskom periodu (11-15).

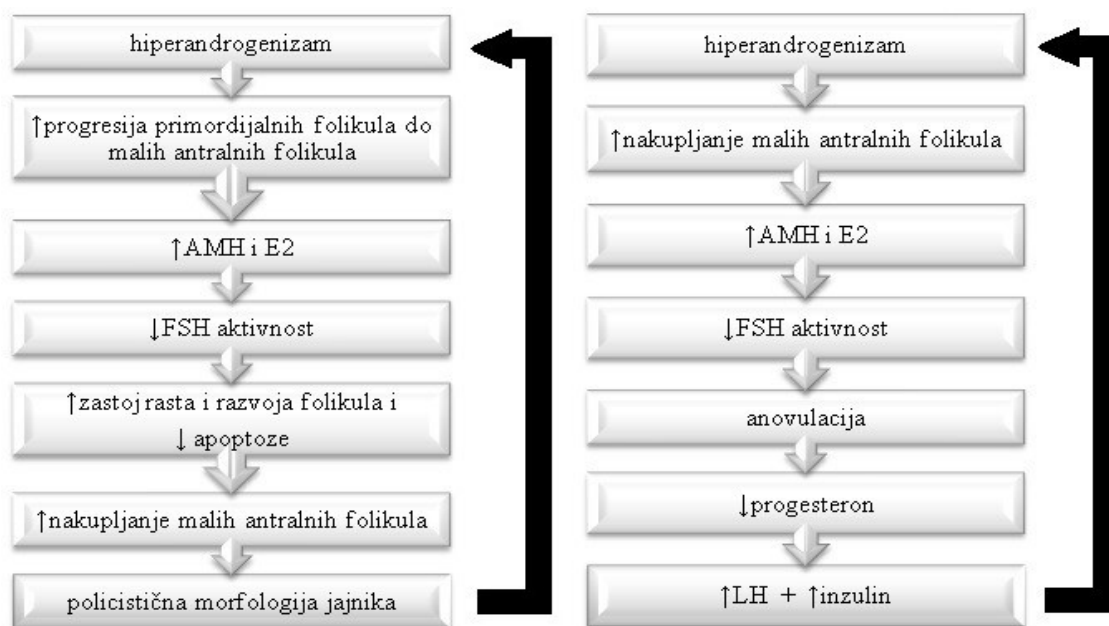
Kronični izostanak ovulacije objektivno se može dokazati kroz dugotrajno serijsko praćenje kliničkih (mjerenje bazalne temperature, folikulometrija, itd.) i/ili biokemijskih (mjerenje koncentracije estradiola, progesterona, itd.) pokazatelja regularnosti ciklusa. Međutim, niti jedna od navedenih metoda nije univerzalno prihvaćena, a upitna je i klinička i ekonomska korist od takvog pristupa (15).

S druge strane, tradicionalna definicija oligomenoreje podrazumijeva intremenstrucijski raspon (IMR) veći od 35 dana, dok se amenorejom smatra intermenstrucijski raspon veći od 180 dana (16). Ove definicije imaju i svojih nedostataka s obzirom na anamnestički način pribavljanja podatka o intermenstrucijskom rasponu, i činjenice da se i neka druga endokrinološka stanja kod kojih dolazi od ovulacije (npr. insuficijencija žutog tijela) mogu manifestirati produljenim menstruacijskom ciklusom. Iako se u ESHRE/ASRM definiciji PCOS-a, oligoamenoreja i/ili amenoreja (OAM) ne spominje, ipak je zbog svoje dostupnosti biljeg oligo- i/ili anovulacije koji se najčešće koristi u rutinskom kliničkom i istraživačkom radu.

### 1.1.2. Hiperandrogenizam

Hiperandrogenizam je termin koji obuhvaća kliničke i/ili biokemijske znakove viška androgena i uglavnom se smatra ključnim endokrinološkim poremećajem u PCOS-u , (Slika 1.1.) (17).

Slika 1.1. Hipotetska uloga hiperandrogenizma u patofiziologiji PCOS-a.



AMH - anti-Müllerov hormon; E2 - estradiol; FSH - folitropin; LH - lutropin.

Znakovi kliničkog hiperandrogenizma su hirzutizam, akne i androgena alopecija. Hirzutizam predstavlja dlakavost lica i/ili tijela prema androgenom obrascu u žene i ključan je za procjenu kliničkog hiperandrogenizma, s obzirom na malu dijagnostičku vrijednost akni i androgene alopecije (10,11). Procjenjuje se vizualno, korištenjem bodovnih sustava, a u kliničkoj praksi se najčešće koristi modificirani Ferriman-Gallweyev (mFG) bodovni sustav (18).

U istraživanju koje je obuhvatilo 950 PCOS pacijentica dijagnosticiranih prema ESHRE/ASRM 2003 kriterijima, klinički je hiperandrogenizam ustanovljen u 72.1% ispitanica (19).

Biokemijski hiperandrogenizam, tj. hiperandrogenemija se obično definirana povećanom koncentracijom cirkulirajućih androgena. Iako niti jedna od rutinskih metoda za mjerenje androgena nije dovoljno osjetljiva i specifična za mjerenje njihove koncentracije u serumu žena, ipak se za procjenu hiperandrogenemije koristi mjerenje koncentracije nekog od cirkulirajućih androgena: ukupnog ili slobodnog testosterona, androstendiona, itd., ili se koriste različiti indeksi (npr. FAI – indeks slobodnih androgena) i izračuni koncentracije slobodnog testosterona (20)

### **1.1.3. Policistična morfologija jajnika**

Prema ESHRE/ASRM 2003 konsenzusu, policistična morfologija jajnika je definirana kao  $\geq 12$  folikula promjera 2-9 mm na barem jednom jajniku i/ili volumen jajnika  $>10$  ml (21). Upotrebom ovog kriterija procjenjeno je da do 94% žena kojima je dijagnosticiran PCOS te 48% nehiperandrogenih žena regularnog menstrualnog ciklusa ima jajnike policistične morfologije (22).

Uvođenjem policistične morfologije jajnika kao kriterija za dijagnozu PCOS-a, u PCOS su uključene fenotipske prezentacije koje nisu ispunjavale oba kriterija iz NIH 1990 definicije te je tako proširen spektar fenotipskih prezentacija obuhvaćenih PCOS-om (Tablica 1.1., 1.2.).

### **1.1.4. Fenotipske podskupine PCOS-a koje proizlaze iz ESHRE/ASRM definicije**

ESHRE/ASRM 2003 definicija PCOS-a je pod zajedničkim nazivom obuhvatila široki spektar fenotipski različitih entiteta (Tablica 1.2.).

Tablica 1.2. Klasifikacija fenotipskih podskupina PCOS-a prema prisutnosti ili odsutnosti policistične morfologije jajnika, oligoovulacije i/ili anovulacije i hiperandrogenizma.

Kriterij	Fenotipovi uključeni u PCOS				Fenotipovi koji nisu uključeni u PCOS-a	
	HA-PCOS*			neHA-PCOS <sup>†</sup>	PCOM - CTRL <sup>‡</sup>	CTRL <sup>§</sup>
	PCOS A	PCOS B	PCOS C	PCOS D		
HA <sup>  </sup>	+	+	+	-	-	-
OA <sup>¶</sup>	+	+	-	+	-	-
PCOM <sup>**</sup>	+	-	+	+	+	-

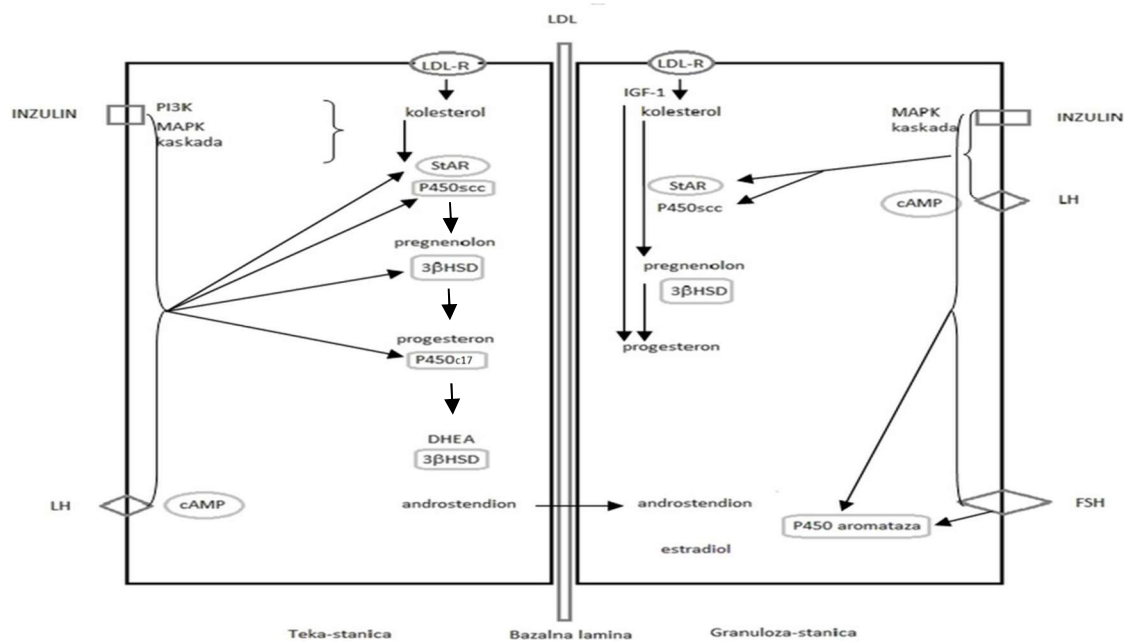
\* – hiperandrogeni PCOS; † – nehiperandrogeni PCOS; ‡ – nehiperandrogene, normoovulatorne žene s izoliranom policističnom morfologijom jajnika; § – nehiperandrogene, normoovulatorne žene s urednom morfologijom jajnika (tzv. superkontrole); || – hiperandrogenizam; ¶ – oligoovulacija i/ili anovulacija; \*\* – policistična morfologija jajnika;

## 1.2. Metabolički poremećaji povezani sa sindromom policističnih jajnika

### 1.2.1. Inzulinska rezistencija u PCOS-u

Inzulin regulira cirkulirajuću razinu glukoze stimulacijom preuzimanja glukoze iz cirkulacije u ciljna tkiva (adipociti, srčani i skeletni mišići) kao i supresijom proizvodnje glukoze u jetri (23,24). Uz to, inzulin inhibira lipolizu što rezultira smanjenom koncentracijom slobodnih masnih kiselina u cirkulaciji te, posredno, dodatno utječe na smanjenu sintezu glukoze u jetri (25-28). Također, djelujući preko receptora na stanicama ovarijskih folikula ima, odnosno može imati i značajnu ulogu u ovarijskoj steroidogenezi, (Slika 1.2.) (29).

Slika 1.2. Unutarstanični putovi koji utječu na regulaciju ovarijske steroidogeneze.



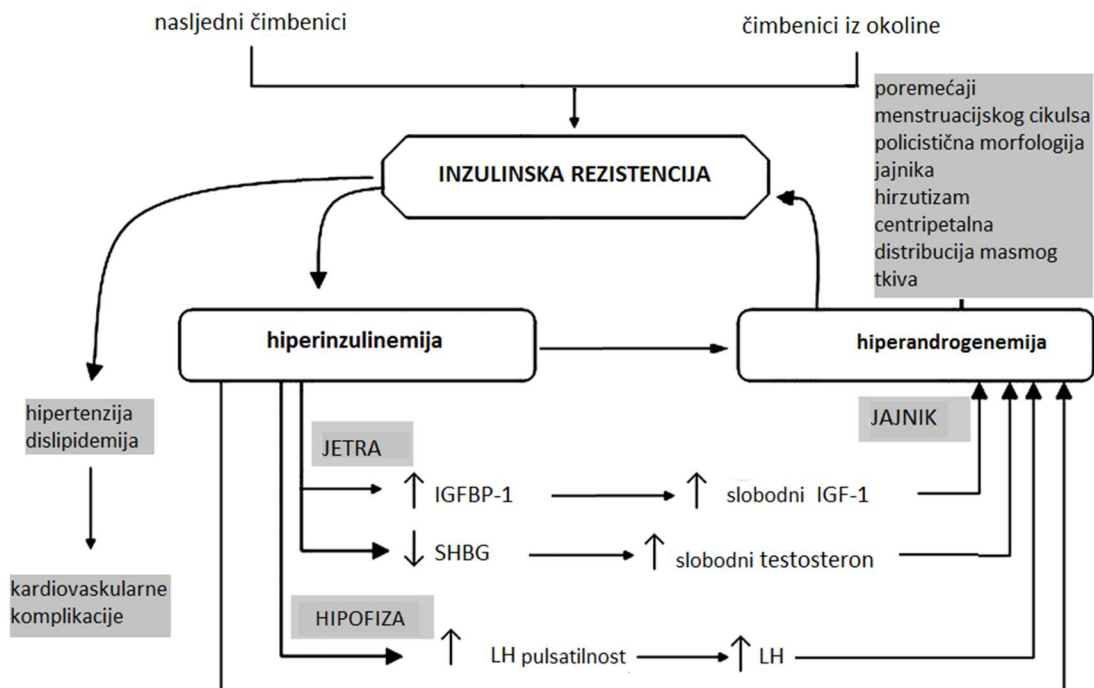
P450scc: P450-citkrom – liaza kolesterolskog postraničnog lanca; P450c17: P450-citkrom 17-hidroksilaza/C17–20 liaza; 3-HSD: 3-hidroksisteroid-dehidrogenaza; P450 -aromataza: P450-citkrom aromataza. LDL: lipoprotein male gustoće; LDL-R: receptor lipoproteina male gustoće; StAR: steroidogeni akutni regulatorni protein; PI 3K: fosfoatidil-inozitol-3-kinaza; MAPK: protein kinaza aktivirana mitogenom (29).

Inzulinska rezistencija (IR) se definira kao stanje smanjene osjetljivosti ciljnih stanica na metaboličku aktivnost inzulina (30). Zbog smanjenog preuzimanja glukoze iz cirkulacije u ciljna tkiva, u cirkulaciji raste koncentracija glukoze, a kao odgovor na posljedičnu hiperglikemiju, beta-stanice gušterače proizvode i u cirkulaciju otpuštaju veće količine inzulina što za posljedicu ima kompenzatornu hiperinzulinemiju koja je glavna biokemijska manifestacija IR. Ukoliko potrebe za inulinom prerastu mogućnosti beta-stanica gušterače da ga proizvedu razvit će se šećerna bolest tip 2 (31,32).

U žena s PCOS-om često se može ustanoviti inzulinska rezistencija, slična onoj u šećernoj bolesti tipa 2, koju karakterizira 34-40%-tno smanjenje preuzimanja glukoze iz cirkulacije u ciljna tkiva posredovano inulinom (33).

IR i kompenzatorna hiperinzulinemija značajno doprinose i reproduktivnim i metaboličkim komplikacijama PCOS-a te ih se može naći u 50-70% žena s PCOS-om, (Slika 1.3.) (17,34).

Slika 1.3. Moguća povezanost inzulinske rezistencije i ostalih poremećaja u PCOS-u.



IGFBP-1 – protein koji veže inzulinu sličan čimbenik rasta 1 ; IGF-1 sinzulinu sličan čimbenik rasta 1; LH – lutropin

Ipak, iako je IR istaknuto obilježje PCOS-a, nije uvrštena u kriterije za dijagnozu PCOS prema ESHRE/ASRM 2003 definiciji, niti prema ostalim definicijama (35). Osim toga, iako se uloga IR u patofiziologiji PCOS-a intenzivno istražuje već godinama, nema jednoznačnog odgovora da li je IR intrinzično svojstvo PCOS-a ili je povezana s debljinom koja je često obilježje žena s PCOS-om (33,35,36). Nadalje, premda je utvrđeno da PCOS-žene s inzulinskom rezistencijom imaju povećani rizik metaboličkih i kardiovaskularnih bolesti, ne postoji opće suglasje o potrebi probira IR u PCOS-pacijentica (37,38).

„Zlatni standard“ za procjenu inzulinske rezistencije *in vivo* predstavlja hiperinzulinemijska, euglikemijska „clamp“-tehnika kojom se izravno kvantificira izlučivanje inzulina (23,24). Kako je provedba ove metode vrlo zahtjevna, u kliničkom se radu za procjenu IR obično koriste zamjenski biljezi kakav je i indeks homeostatskog modela za procjenu inzulinske rezistencije (HOMA-IR). Upotrebom dijagnostičkog praga za HOMA-IR (HOMA-IR >3.15) za definiciju inzulinske rezistencije, koji je specifičan za populaciju pacijentica Odjela za

humanu reprodukciju KB Merkur, Zagreb, u PCOS pacijentica je ustanovljena učestalost inzulinske rezistencije od 28.4% (39).

### **1.2.2. Poremećaj metabolizma lipida u PCOS-u**

Prema europskim smjernicama za prevenciju kardiovaskularnih bolesti (KVB), preporučene vrijednosti biljega metabolizma lipida su:

- serumska koncentracija triglicerida (TG) < 1.7 mmol/L
- serumska koncentracija ukupnog kolesterola (TC) < 5,0 mmol/L
- serumska koncentracija LDL-kolesterola, tj. koncentracija kolesterola u razredu lipoproteina male gustoće (LDL-C) < 3,0 mmol/L
- serumska koncentracija HDL-kolesterola, tj. koncentracija kolesterola u razredu lipoproteina velike gustoće (HDL-C) > 1,2 mmol/L (40)

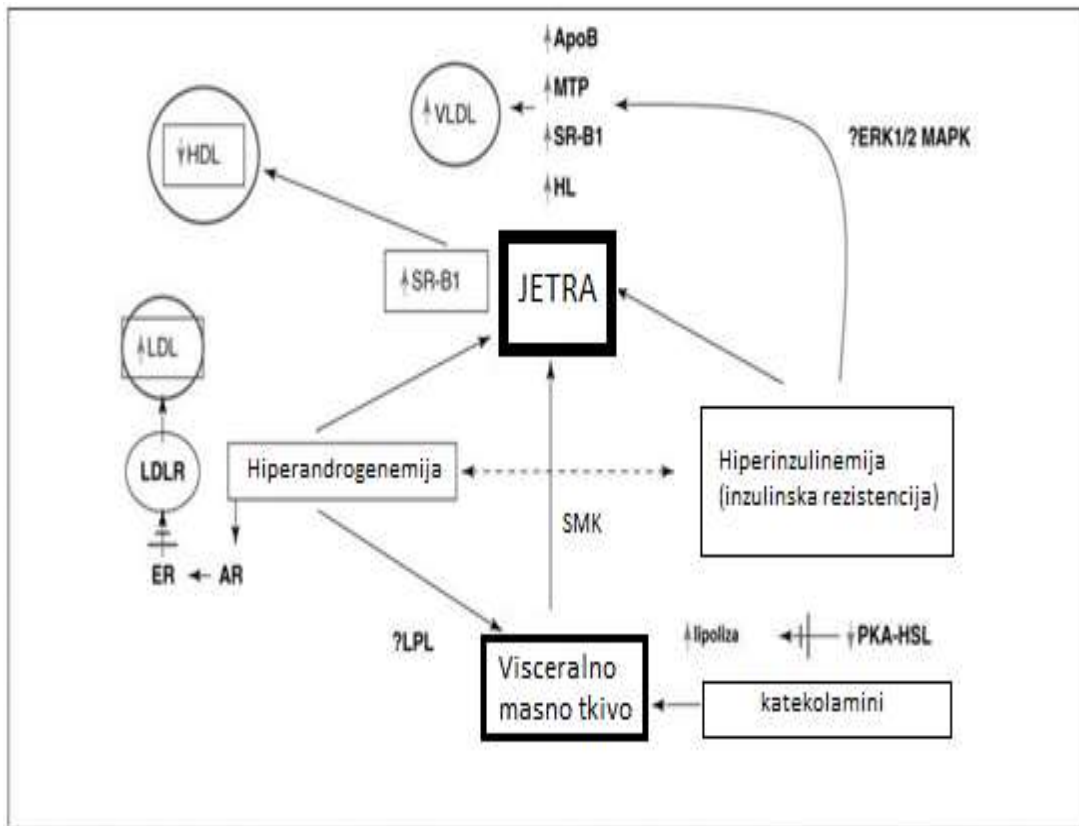
Nedavno je, kao kliničko-biokemijski biljeg metabolizma lipida predložen indeks visceralne debljine (IVD) koji se pokazao pouzdanim prediktorom kardiometaboličkog rizika u žena s PCOS-om, i općenito (41,42).

Poremećaji metabolizma lipida (dislipidemije) predstavljaju rizični čimbenik za razvoj KVB, a oko 70% PCOS-pacijentica ima vrijednost nekog od biljega metabolizma lipida izvan preporučenih vrijednosti (43). Pri tome, epidemiološka istraživanja prevalencije dislipidemija u PCOS-u ukazuju na značajne etničke razlike. Dislipidemija je utvrđena u 36% žena mediteranskog podrijetla koje su imale dijagnosticiran tzv. klasični PCOS (PCOS A fenotip), dok je udio dislipidemija znatno veći u žena koje žive u SAD-u (44).

U adipocitima, inzulinska rezistencija i hiperandrogenemija rezultiraju pojačanom lipolizom koju induciraju katekolamini i posljedičnim otpuštanjem masnih kiselina u cirkulaciju (Slika 1.4.). Povećani dotok masnih kiselina u jetru stimulira proizvodnju i sekreciju lipoproteina vrlo male gustoće (VLDL) što rezultira hipertrigliceridemijom (45).



Slika 1.4. Patofiziologija i mogući mehanizmi nastanka dislipidemije u PCOS-u.



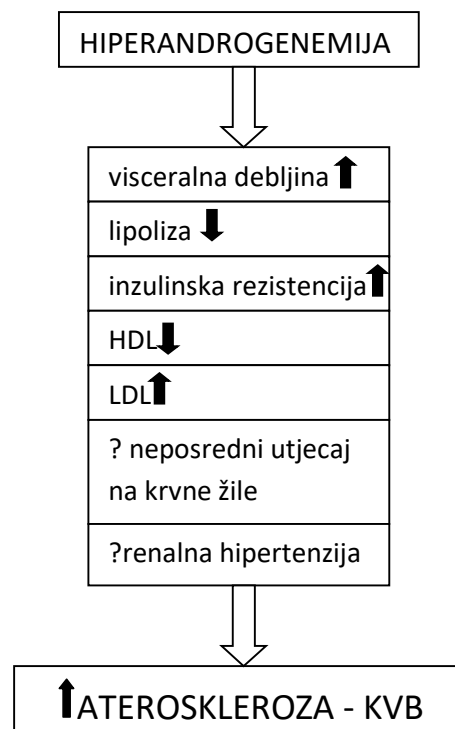
Strelice predstavljaju potencijalna međudjelovanja. Skraćenice: ApoB - apolipoprotein b; AR - receptor za androgene; ER - receptor za estrogene; ERK1/2 MAPK - kinaza regulirana izvanstaničnim signalima 1 / 2 protein kinaza aktivirana mitogenima; SMK - slobodne masne kiseline; HL - hepatična lipaza; HDL - lipoproteini velike gustoće; VLDL - lipoproteini vrlo male gustoće; LDL - lipoproteini male gustoće; LDLR - receptor za lipoproteine male gustoće; LPL - lipoprotein-lipaza; MTP - mikrosomski prijenosni protein triglicerida; PKA-HSL, kompleks protein-kinaze A i hormon-osjetljive lipaze; SR-B1 - receptor čistač B1 (*engl.* scavenger receptor B1). Prema: Diamanti-Kandarakis i sur. Pathophysiology and types of dyslipidemia in PCOS. Trends in Endocrinology and Metabolism 2007;18:280-5

Iako se u PCOS-u javljaju različite vrste dislipidemija, s PCOS-om se najčešće povezuju smanjena razina HDL- kolesterola i povećana razina TG u cirkulaciji, a to je lipidni profil za kojeg se zna da je povezan s IR (46-52). Uz debljinu se povezuje i poremećaj lipolize posredovane lipoprotein-lipazom.

Nepovoljnom profilu lipida dodatno doprinosi sklonost centripetalnoj raspodjeli masnog tkiva u PCOS (53). Zna se da hiperandrogenizam favorizira centripetalnu raspodjelu masnog tkiva, a na lipidni profil može dodatno djelovati pojačavajući razgradnju lipoproteina velike gustoće, smanjujući razgradnju lipoproteina male gustoće i modificirajući aktivnost lipoprotein-lipaze (54-61). Ipak, iako su hiperandrogenizam i poremećaji metabolizma lipida u PCOS-u tijesno povezani (Slika 1.5.), patofiziološka pozadina te povezanosti, kao i povezanost hiperandrogenizma i kardiovaskularnih bolesti, nije sasvim jasna (17).

Na temelju iznesenog može se zaključiti da su IR i kompenzatorna hiperinzulinemija, uz hiperandrogenemiju i debljinu, ključni metabolički poremećaji koji dovode do nastanka dislipidemija u PCOS-u (45).

Slika 1.5. Moguća povezanost povišenih koncentracija androgenih hormona i kardiovaskularnih bolesti (KVB)



HDL - lipoproteini velike gustoće; LDL - lipoproteini male gustoće; KVB - kardiovaskularne bolesti

### 1.3. Nehiperandrogeni PCOS

PCOS je kompleksan i heterogen poremećaj (62). ESHRE/ASRM 2003 definicija je u fenotipske prezentacije PCOS-a uključila i oligo- i/ili anovulatorne žene s PCOM koje nemaju znakove kliničkog i/ili biokemijskog HA, tzv. nehiperandrogeni PCOS fenotip (neHA-PCOS).

Ovaj fenotip doprinosi fenotipskoj heterogenosti PCOS-a, također i u metaboličkom smislu. Uglavnom, istraživanja su pokazala da klinički, antropometrijski i/ili biokemijski pokazatelji koji služe za procjenu metaboličkog statusa (metabolička obilježja) ukazuju na manji metabolički rizik u neHA-PCOS-a u odnosu na HA-PCOS. S druge strane, literaturni podaci o metaboličkim obilježjima neHA-PCOS žena u odnosu na žene koje ne ispunjavaju kriterije za PCOS nisu jednoznačni (63). Pokazano je da, u usporedbi sa zdravim ženama, neHA-PCOS ispitanice imaju veći indeks tjelesne mase (ITM) i više vrijednosti triglicerida, glukoze i inzulina natašte, kao i niže vrijednosti HDL-kolesterola (64). U usporedbi s kontrolnom skupinom jednakog ITM, neHA-PCOS žene su imale veći omjer opsega struka i opsega bokova, ali se, usprkos tome, od kontrolne skupine nisu razlikovale u koncentraciji inzulina natašte (65). U istraživanju koje je imalo za cilj usporediti ne-HA-PCOS i kontrolnu skupinu slične dobi, tjelesne mase i ITM, nije nađena razlika u opsegu struka, lipidnom profilu, sistoličkom i dijastoličkom krvnom tlaku, kao ni u prevalenciji metaboličkog sindroma, poremećaja glikemije natašte, šećerne bolesti tipa 2. Ipak, neHA-PCOS ispitanice su imale povećanu koncentraciju inzulina u serumu i povećan indeks inzulinske rezistencije (HOMA-IR) što ukazuje na metabolički poremećaj neovisan o ukupnoj ili abdominalnoj debljini (66). Međutim, druge, slično ustrojene studije, to nisu potvrdile (67-69). Zbog toga, nema ni definitivnog konsenzusa o metaboličkom statusu i stoga ni metaboličkom riziku neHA-PCOS žena (63).

Izostanak konsenzusa o metaboličkim obilježjima neHA-PCOS fenotipa PCOS u odnosu na zdrave žene i ostale fenotipove PCOS-a, naveo je dio je stručne javnosti (radna skupina Društva za hiperandrogenizam i PCOS) da predloži izmjenu kriterija za definiciju PCOS-a prema kojoj bi hiperandrogenizam bio nužan uvjet za dijagnozu PCOS (AES definicija, Tablica 1), a to znači da PCOS fenotip D koji obuhvaća nehiperandrogene žene s policističnim jajnicima više ne bi bio uključen u fenotipove PCOS-a (11).

Mogući važan razlog izostanka konsenzusa o metaboličkom statusu i metaboličkim rizicima su metodološke razlike u istraživanjima kao npr. u definiciji PCOS-a, kriterijima za definiciju policistične morfologije jajnika, oligo/anovulacije i hiperandrogenizma, itd.

Naime, iako je ESHRE/ASRM 2003 definicija ne spominje, oligo- i/ili amenoreja je biljeg oligo- i/ili anovulacije koji se najčešće koristi u kliničkom radu i istraživanjima. Prema ESHRE/ASRM 2003 definiciji, neHA-PCOS obuhvaća populaciju nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i produljenim intermenstruacijskim rasponom. S druge strane, nehiperandrogene žene s izoliranom policističnom morfologijom jajnika (PCOM) i regularnim menstruacijskim ciklusom (PCOM-CTRL), prema istoj definiciji, ne ispunjavaju kriterije za dijagnozu PCOS (Tablica 1).

S obzirom da ne postoje jasno definirani kriteriji za dijagnozu oligomenoreje, amenoreje i anovulacije, niti referentni intervali specifični za dob i populaciju, u istraživanjima koja se bave procjenom metaboličkog statusa i metaboličkog rizika u PCOS-u, oligo/amenoreja se definira arbitrarno. Posljedično, ispitanica s PCOM i jednakim IMR u jednom je istraživanju mogla biti svrstana u PCOS, a u drugom u kontrolnu skupinu, ili je mogla biti isključena iz istraživanja što je moglo utjecati na krajnji ishod istraživanja.

Nadalje, arbitrarno uključivanje PCOM-CTRL skupine u kontrolnu skupinu u istraživanjima koja se bave usporedbom neHA-PCOS fenotipa i kontrolne skupine otežava usporedbu rezultata slično ustrojnih istraživanja i stoga sprječava pouzdano utvrđivanje metaboličkog statusa/rizika PCOM-CTRL skupine u odnosu na ne-PCOS populaciju. Naime, dio istraživanja je PCOM-CTRL ženama, također, pripisao nepovoljnija reproduktivna i metabolička obilježja u usporedbi sa zdravim ženama i urednom morfologijom jajnika. Veća tjelesna masa, veće koncentracije androgena, nepovoljniji kardiovaskularni čimbenici rizika i biljezi inzulinske rezistencije su ustanovljeni u žena s policističnom morfologijom jajnika u odnosu na žene uredne morfologije jajnika (70-73). No druge, slično ustrojene studije nisu potvrdile ovo opažanje (74-76) pa ostaje nejasno da li arbitrarno uključivanje žena s policističnom morfologijom jajnika bez drugih obilježja PCOS-a u kontrolnu skupinu može utjecati na rezultate studija koje uspoređuju metabolička obilježja žena s različitim fenotipovima PCOS-a i žena koje nisu uključene u PCOS.

Sumarno, analizom literaturnih podataka uočavaju se dva temeljna metodološka problema:

1. različita definicija oligo- i/ili amenoreje – produljenog intermenstruacijskog raspona

2. nedosljedno uključivanje ili isključivanje PCOM-CTRL skupine u kontrolnu skupinu. Metodološke razlike u istraživanjima metaboličkih obilježja neHA-PCOS žena su prikazane su Tablicom 1.3.

Prema tome, arbitrarna definicija oligo/amenoreje ima za posljedicu arbitrarnu raspodjelu ispitanica u kontrolnu, PCOM-CTRL i neHA-PCOS skupinu što potencijalno utječe na metabolička obilježja formiranih skupina, a time i na zaključke studija koje se bave usporedbom njihovog metaboličkog statusa (63).

Tablica 1.3. Metodološke razlike u istraživanjima metaboličkih obilježja neHA-PCOS žena.

<b>ISTRAŽI- VANJE</b>	<b>CTRL (N)</b>	<b>PCOM- CTRL (N)</b>	<b>neHA- PCOS (N)</b>	<b>HA-PCOS</b>	<b>Definicija OAM (dani)</b>
*		21 <sup>(1)</sup>		97	nije navedeno
†	118	isključene	66	313	>45
‡	64	nije navedeno	36	77	>40
§	110	nije navedeno	34	187	nije navedeno
	23	nije navedeno	28	132 <sup>(3)</sup>	>45
¶	76	nije navedeno	42	267	nije navedeno
**	21	2 <sup>(2)</sup>	-		>60
††	277	/	52	110	>35

CTRL - kontrolna skupina; PCOM-CTRL - nehiperandrogene, eumenoroične žene s policističnom morfologijom jajnika; neHA-PCOS - nehiperandrogene, oligo/amenoroične žene s policističnom morfologijom jajnika; HA-PCOS - hiperandrogene žene koje ispunjavaju ESHRE/ASRM 2003 kriterije za PCOS;

\* - (63); † - (64); ‡ - (65); § - (66), || - (67); ¶ - (74); \*\* - (22); †† - (75);

<sup>(1)</sup>nije naveden kriterij za procjenu policistične morfologije; <sup>(2)</sup> definicija policistične morfologije po Adamsu (76); <sup>(3)</sup>nije procjenjivana morfologija jajnika

## 2. CILJ RADA

Ciljevi istraživanja:

1. Istražiti postoji li povezanost između IMR i metaboličkih obilježja u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOM)
2. Odrediti graničnu vrijednosti IMR koja prema metaboličkom riziku dijeli neHA-PCOM žene u dvije podskupine: PCOM-CTRL i neHA-PCOS
3. Usporediti metabolička obilježja PCOM-CTRL i neHA-PCOS podskupina
4. Usporediti metabolička obilježja PCOM-CTRL i CTRL, te neHA-PCOS i HA-PCOS podskupina.

Svrha je ovog istraživanja bila:

- 1) ustanoviti ovisi li metabolički rizik u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika o intermenstruacijskom intervalu
- 2) primjenom odgovarajućih metoda ustanoviti duljinu IMR koja će statistički značajno odijeliti ispitanice s većim metaboličkim rizikom od onih s manjim metaboličkim rizikom
- 3) predložiti jednostavan i, u svakodnevnom kliničkom radu, primjenjivu metodu identifikacije većeg metaboličkog rizika u nehiperandrogenih pacijentica s policističnom ovarijskom morfologijom.

### **3. ISPITANICE I METODE**

#### **3.1 Ustroj istraživanja**

Retrospektivna analiza podataka prikupljenih za studiju „Metabolički poremećaji u fenotipskim podskupinama sindroma policističnih jajnika prema Rotterdamskim kriterijima“.

#### **3.2. Ispitanice**

Istraživanje je provedeno obradom prethodno prikupljenih, kliničkih i biokemijskih podataka pacijentica Odjela za humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode, Kliničke bolnice Merkur, Zagreb. Podatci su prikupljeni tijekom rutinske dijagnostičke obrade u svrhu liječenja neplodnosti od siječnja 2008. do prosinca 2013. i upisivani u odjelnu kompjutorsku bazu podataka.

##### **3.2.1. Kriteriji za uključanje ispitanica u istraživanje:**

1. dob 20-40 godina
2. uredna osobna i ginekološka anamneza s obzirom na bolesti i stanja koje mogu utjecati na rezultate istraživanja
3. potpisani pristanak na ustupanje osobnih, kliničkih i laboratorijskih podataka u svrhu istraživanja
4. prikupljeni su svi podatci na način opisan u metodama

##### **3.2.2. Kriteriji za neuključenje ispitanica u istraživanje:**

1. dob iznad 40 godina
2. osobna anamneza pozitivna na šećernu bolest
3. osobna anamneza pozitivna na poremećaje funkcije štitne žlijezde
4. osobna anamneza pozitivna na hiperprolaktinemiju



5. uzimanje lijekova koji mogu utjecati na duljinu menstrualnog ciklusa ili mijenjati endokrinološki i/ili metabolički profil ispitanice.
6. šećerna bolest i/ili poremećena tolerancija glukoze ustanovljeni tijekom studije
7. poremećaji funkcije štitne žlijezde ustanovljeni tijekom studije
8. hiperprolaktinemija ustanovljena tijekom studije
9. izolirani hiperandrogenizam
10. izolirani poremećaj menstrualnog ciklusa (<21 i >35 dana)
11. tvorba >9 mm na jajniku vizualizirana tijekom transvaginalnog ultrazvučnog pregleda 3-5 dan ciklusa ili nazočnost druge ovarijske i/ili zdjelične patologije

### **3.2.3. Skupine**

Ispitanice (n=555) su razvrstane u tri skupine na temelju morfologije jajnika i prisutnosti kliničkih i/ili biokemijskih znakova hiperandrogenizma:

1. kontrolna skupina (CTRL), nehiperandrogene žene s urednom morfologijom jajnika i regularnim intermenstrualnim intervalom (IMR), n=167
2. nehiperandrogene žene s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOM), n=250
3. hiperandrogene žene s policističnom morfologijom jajnika (HA-PCOS), n=138.

### **3.2.4. Uzorak**

U pilot-istraživanju koje je uključilo 129 neHA-PCOM ispitanica ustanovljena je povezanost serumske koncentracije triglicerida i IMR. Veličina neHA-PCOM skupine (n=250) određena je tako da osigura vjerojatnost pogreške u testiranju hipoteze o povezanosti serumske koncentracije triglicerida i IMR od  $\alpha=0.01$  i  $\beta=0.05$ .

### **3.2.5. Definicije**

Intermenstrualni raspon (IMR) definiran je kao prosječno trajanje menstrualnog ciklusa u prethodnoj godini dana.

Regularni IMR je definiran kao prosječni vremenski interval između dviju menstruacija u prethodnih godinu dana veći od 21 dan i manji od 35 dana.

Hiperandrogenizam je definiran biokemijski, kao serumska koncentracija testosterona (T)  $>2,8$  nmol/L i/ili klinički, stupnjem i opsegom hirzutizma  $>7$  prema Ferriman-Gallwey bodovnoj ljestvici (*engl.* modified Ferriman-Gallwey score, mFG) (18).

### **3.3 Metode**

Pribavljanje anamnestičkih podataka, antropometrijska mjerenja (visina, tjelesna masa i opseg struka), uzimanje uzorka krvi za laboratorijske analize i transvaginalni ultrazvučni pregled izvršeni su u ranoj folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa (tj. 3.- 5. dana menstrualnog ciklusa, odnosno krvarenja induciranog gestagenima u slučaju amenoreje).

#### **3.3.1. Prikupljanje anamnestičkih podataka**

Podatci o uobičajenom trajanju menstrualnog ciklusa u prethodnoj godini pribavljeni su tijekom rutinskog postupka prikupljanja anamnestičkih podataka.

Ukoliko se podatak o uobičajenom trajanju menstrualnog ciklusa nije mogao dobiti, za procjenu intermenstrualnog raspona korišteni su podatci o najkraćem i najdužem menstrualnom ciklusu u prethodnoj godini, regularnosti menstrualnog ciklusa i broju menstrualnih ciklusa u prethodnoj godini dana

#### **3.3.2. Antropometrijska mjerenja**

Opseg struka je izmjeren u stojećem stavu, u srednjoj aksilarnoj liniji, u točki koja se nalazi u sredini između donjeg ruba rebra i ilijačne kriste. Tjelesna masa određena je korištenjem umjerene medicinske decimalne vage s kliznim utegom, a mjerenje visine je izvršeno korištenjem visinomjera u standardnom antropometrijskom položaju: u stojećem stavu, bez obuće, skupljenih peta na ravnoj podlozi, relaksiranih ramena, s rukama ispruženim uz trup i glavom u položaju tzv. frankfurtske ravnine (crta koja spaja lijevi tragus s najnižom točkom

donjeg ruba lijeve orbite i razina pogleda u istoj razini). Indeks tjelesne mase (ITM) je izračunat upotrebom jednadžbe:  $ITM = \text{tjelesna masa (kg)} / \text{visina (m}^2\text{)}$ .

### 3.3.3. Laboratorijske analize

Uzorci krvi za hormonske i biokemijske pretrage su uzeti natašte između 8:00 i 9:30 sati. Koncentracije testosterona (T), lutropina (LH) i folitropina (FSH) u serumu su određene kemilumino-imunokemijskom metodom na analitičkom sustavu Access 2 (Beckman Coulter, Inc., Brea, SAD). Koncentracije inzulina (FI) i tirotropina (TSH) su određene kemilumino-imunokemijskom metodom na analitičkom sustavu Centaur XP (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Tarrytown, SAD). Koncentracija glukoze u serumu (FG) je određena fotometrijskom (UV) metodom s heksokinazom, koncentracija triglicerida (TG) u serumu je određena fotometrijskom (UV) metodom s glicerofosfat-oksidadom, koncentracija kolesterola (TC) je određena fotometrijskom (UV) metodom s kolesterol-oksidadom, a koncentracija HDL-kolesterola (HDL-C) je određena homogenom enzim-imunoinhibicijskom metodom na biokemijskom analizatoru AU600 (Beckman Coulter, Inc., Mishima, Japan). Koncentracija LDL-kolesterola (LDL-C) je izračunata pomoću Friedwaldove jednadžbe:  $LDL-C \text{ (mmol/L)} = TC \text{ (mmol/L)} - TG \text{ (mmol/L)} / 2.2 - HDL-C \text{ (mmol/L)}$ . Sve laboratorijske analize su izrađene u laboratoriju akreditiranom prema EN ISO 15189.

Indeks inzulinske rezistencije (*engl.* homeostasis model assessment for insulin resistance index, HOMA-IR) je izračunat upotrebom jednadžbe:  $HOMA-IR = \text{glukoza u serumu natašte (mmol/L)} \times \text{inzulin u serumu natašte (mIU/L)} / 22,5$  (77).

Indeks visceralne debljine (IVD) je izračunat prema jednadžbi:  $IVD = (OS / 36.58 + (1.89 * ITM)) * (TG / 0.81) * (1.52 / HDL-C)$  (41)

### 3.3.4. Transvaginalni ultrazvučni pregled

Neposredno nakon antropometrijskih mjerenja i uzimanja uzorka krvi za biokemijske analize, transvaginalnom ultrazvučnom sondom frekvencije 5-7 MHz (Toshiba, Nemio, Japan) prikazivane su zdjeljene strukture i provjeravana eventualna nazočnost zdjeljene patologije.

Morfologija jajnika je procjenjivana temeljem promjera i broja vizualiziranih folikula. Promjer folikula predstavlja srednju vrijednost dva izmjerena, međusobno okomita, promjera. Broj folikula ustanovljen je u realnom vremenu, pomicanjem vaginalne sonde od jedne od druge margine jajnika.

Uredna morfologija jajnika definirana je prisutnošću <12 folikula promjera 2-9 mm na oba jajnika uz nepostojanje druge ovarijske patologije.

Policistična morfologija jajnika je definirana kao  $\geq 12$  folikula promjera 2-9 mm na barem jednom jajniku (21).

### 3.3.5. Obilježja metaboličkog statusa

Kao obilježja metaboličkog statusa korišteni su sljedeći klinički, antropometrijski i biokemijski parametri:

Opći biljezi metaboličkog statusa:

- indeks tjelesne mase,
- opseg struka – kao mjera androidne debljine,
- indeks visceralne debljine (IVD) koji je izračunat prema jednadžbi:  
$$IVD = (OS/36.58 + (1.89 * ITM)) * (TG/0.81) * (1.52/HDL-C)$$
 kao mjera visceralne debljine povezane s rizikom od kardiovaskularnih bolesti.

Biljeg inzulinske rezistencije:

- HOMA-IR.

Biljezi metabolizma lipida:

- koncentracija triglicerida,
- koncentracija ukupnog kolesterola,
- koncentracija LDL-kolesterola,
- koncentracija HDL-triglicerida.

Obilježjima nepovoljnog metaboličkog statusa u ovom istraživanju su smatrani:

- indeks tjelesne mase  $> 29 \text{ kg/m}^2$ ,

- opseg struka > 80 cm (78),
- HOMA-IR > 3.15 (39),
- koncentracija triglicerida  $\geq 1.7$  mmol/L (40),
- koncentracija ukupnog kolesterola  $\geq 5,0$  mmol/L (40),
- koncentracija LDL-kolesterola  $\geq 3,0$  mmol/L (40),
- koncentracija HDL-kolesterola  $\leq 1,2$  mmol/L (40).

### 3.3.6. Statistička obrada podataka

Prikupljeni podatci obrađeni su pomoću statističkog programa MedCalc ver. 12.1.4.0 (MedCalc Software, Ostend, Belgium).

Za utvrđivanje povezanosti IMR s metaboličkim obilježjima i ostalim promatranim parametrima korištena je univarijantna regresijska analiza, a za daljnju račlambu tih povezanosti višestruka regresijska analiza.

Vrijednost IMR u identifikaciji pacijentica s nepovoljnim metaboličkim obilježjem (obilježjima) procjenjivana je analizom „receiver operating characteristic“ (ROC) krivulje. Granična vrijednost IMR-a koja optimalno diskriminira neHA-PCOM pacijentice s nepovoljnim metaboličkim statusom od onih s povoljnim metaboličkim statusom određena je prema Youdenovom indeksu.

Razdiobni kriterij za klasifikaciju ispitanica studijske skupine u dvije podskupine odabran je na temelju rezultata logističke regresije.

Kruskal-Walisov test s parnom post-hoc usporedbom po Conoveru korišten je za usporedbu metaboličkih obilježja po (pod)skupinama, a ANCOVA za usporedbu metaboličkih obilježja uz kontrolu mogućih smetnji (*engl.* confoundera).

Hi-kvadrat test je korišten za usporedbu kategorijskih varijabli i udjela.

P-vrijednost < 0.05 je smatrana statistički značajnom.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Obilježja studijske skupine

Klinička, biokemijska, antropometrijska i metabolička obilježja studijske skupine – nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOM; n=250) prikazana su Tablicom 4.

Tablica 4.1. Klinička, biokemijska, antropometrijska i metabolička obilježja studijske skupine – nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika.

<b>Dob (godine)</b>	31 (28-33)
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>	23 (21-26)
<b>OS (cm)</b>	73 (66- 81)
<b>TG (mmol/L)</b>	0.89 (0.65-1.26)
<b>TC (mmol/L)</b>	5.0 (4.4 - 5.6)
<b>HDL-C (mmol/L)</b>	1.5 (1.3 - 1.8)
<b>LDL-C (mmol/L)</b>	3.0 (2.4 - 3.6)
<b>HOMA-IR</b>	1.87 (1.19 - 3.05)
<b>Inzulin (mIU/L)</b>	8.2 (5.8-12.7)
<b>IVD</b>	0.96 (0.68 - 1.59)
<b>Testosteron (nmol/L)</b>	1.7 (1.4-2.1)
<b>mFG</b>	3 (1-4)

Podatci su prikazani kao medijan s 25-75 percentilom navedenim u zagradi.

#### 4.2. Povezanost IMR s metaboličkim obilježjima

U nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika ustanovljena je povezanost intermenstruacijskog raspona (IMR) sa sljedećim metaboličkim obilježjima: indeksom tjelesne mase, opsegom struka, trigliceridima, ukupnim kolesterolom, HDL-kolesterolom, LDL-kolesterolom, HOMA-IR-om i indeksom visceralne debljine (IVD), (Tablica 4.2.).

Tablica 4.2. Povezanost intermenstruacijskog raspona s dobi i metaboličkim obilježjima u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika

	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
<b>Dob (godine)</b>		NS
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>	0,035	0,003
<b>OS (cm)</b>	0,084	<0,001
<b>TG (mmol/L)</b>	0,067	<0,001
<b>TC (mmol/L)</b>	0,031	0,006
<b>HDL-C (mmol/L)</b>	0,031	0,006
<b>LDL-C (mmol/L)</b>	0,044	<0,001
<b>HOMA-IR</b>	0,133	<0,001
<b>IVD</b>	0,074	<0,001
<b>Testosteron (nmol/L)</b>	0.039	0.002
<b>mFG</b>	0.010	NS

R<sup>2</sup> - koeficijent regresije; vrijednost P-vrijednost <0.05 je smatrana statistički značajnom. NS - nije statistički značajno

U neHA-PCOM skupini, ustanovljena je o ITM-u neovisna povezanost IMR s HOMA-IR-om s (R<sup>2</sup>=0.422; P<0.001). Također, ustanovljena je i, o ITM-u neovisna, povezanost IMR s hipertrigliceridemijom ( P<0.001).

#### 4.3. Utjecaj arbitrarnih definicija oligo- i/ili amenoreje na razdiobu ispitanica u studijskoj skupini

Tablica 4.3. Utjecaj odabira različitih intermenstruacijskih raspona za definiciju oligo- i/ili amenoreje na udio neHA-PCOS ispitanica u neHA-PCOM skupini (n=250).

	Intermenstruacijski raspon (dani)			<i>P</i>
	>35	>40	>45	
<b>Udio neHA-PCOS ispitanica u neHA-PCOM skupini (%)</b>	45.6	35.6	30.0	<0.001

P-vrijednost je izračunata hi-kvadrat testom. P-vrijednost < 0.05 je smatrana statistički značajnom.

#### 4.4. Vrijednost intermenstruacijskog raspona u identifikaciji nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i biljezima nepovoljnog metaboličkog statusa

Granične vrijednosti IMR za predikciju nepovoljnog metaboličkog statusa u neHA-PCOM ispitanica odabrane su analizom ROC krivulje, (Tablica 4.4.).

Ukupno je 107 od 250 ispitanica u studijskoj skupini imalo barem jedno od obilježja nepovoljnog metaboličkog statusa (42.8%). Identificirane su dvije granične vrijednosti IMR za predikciju nepovoljnog metaboličkog statusa u neHA-PCOM ispitanica: >45 i >47 dana. Logistička regresijska analiza je upotrebljena kako bi se dobivenih graničnih vrijednosti IMR identificirala ona s najvećom vrijednošću. u predikciji nepovoljnog metaboličkog statusa u neHA-PCOM skupini (Tablica 4.5.).



Tablica 4.4. IMR u identifikaciji nepovoljnog metaboličkog statusa u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i obilježjem.

<b>Obilježje nepovoljnog metaboličkog statusa</b>	<b>AUC (95%CI)</b>	<b><i>P</i></b>	<b>Granična vrijednost IMR (dani)</b>	<b>N (%)</b>
<b>ITM &gt; 29 kg/m<sup>2</sup></b>	-	NS	-	27 (10,8)
<b>OS &gt; 80 cm</b>	0,598 (0,534 - 0,659)	0,025	>45	63 (25,2)
<b>HOMA-IR &gt;3,15</b>	0,646 (0,583 - 0,705)	<0,001	>45	57 (22,8)
<b>TG&gt;1,7 mmol/L</b>	0,776 (0,720 - 0,827)	<0,001	>45	34 (13,6)
<b>TC&gt;5,0 mmol/L</b>	-	NS	-	124 (49,6)
<b>HDL-C&lt;1,2 mmol/L</b>	0,623 (0,56 - 0,683)	0,015	>47	36 (14,4)
<b>LDL-C&gt;3,0 mmol/L</b>	-	NS	-	126 (50,4)

AUC - površina ispod ROC krivulje; N - broj neHA-PCOM ispitanica s nepovoljnim metaboličkim obilježjem; vrijednost  $P < 0.05$  je smatrana statistički značajnom; NS - nije statistički značajno

Tablica 4.5. Odabir optimalne granične vrijednosti IMR za predikciju nepovoljnog metaboličkog statusa.

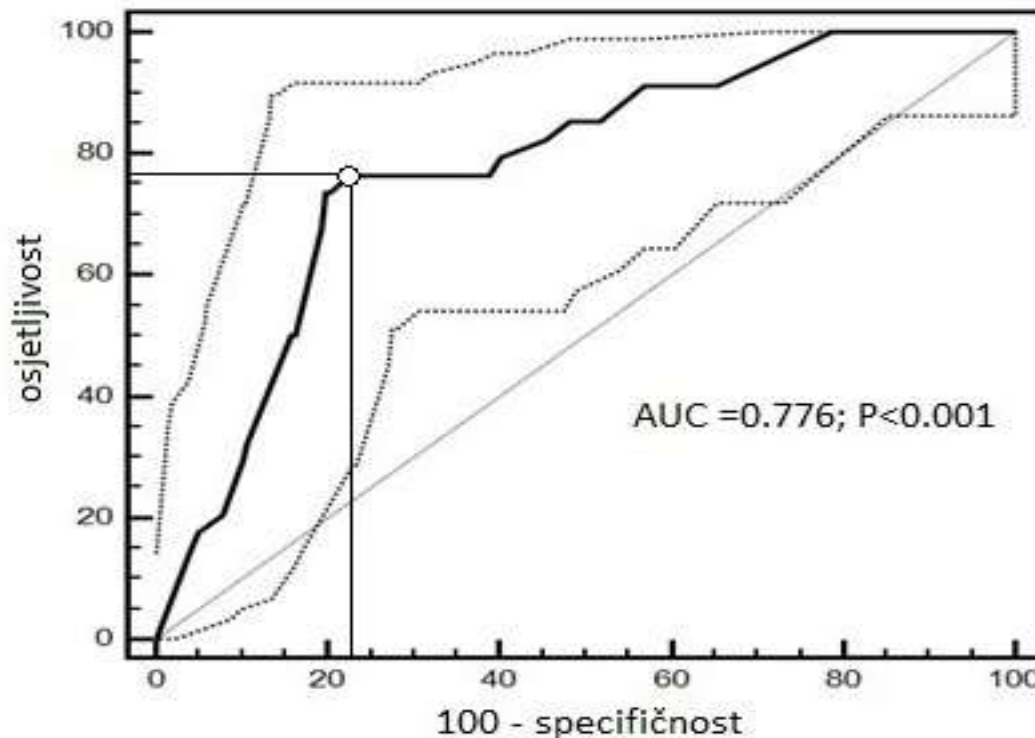
Zavisna varijabla (Y)	OR (OS>80; TG>1.7; HDL<1.2; HOMA-IR>3.15)		
Filter	nonHA-PCOM=1		
Metoda	„Stepwise“		
ulaz varijable ako je P<	0.05		
izlaz varijable ako je P>	0.1		
Veličina uzorka	250		
N(Y=0)	143 (57.20%)		
N(Y=1)	107 (42.80%)		
<b>Ukupna prikladnost modela</b>			
Značajnost	P = 0.0009		
<b>Koeficijenti i standardne greške</b>			
Varijabla	Koeficijent	Std. greška	P
IMR>45=1	0.92557	0.28247	0.0011
Konstanta	-0.5754		
Varijable koje nisu uključene u model			
IMR>47			
<b>Relativni rizik (RR) i 95%-tni interval pouzdanosti (95%CI)</b>			
Varijabla	RR	95% CI	
IMR>45=1	<b>2.5233</b>	<b>1.4505 to 4.3894</b>	

Tablica je izrađena prema obrascu logističke regresijske analize iz statističkog programa MedCalc uz korištenje barem jednog od biljega nepovoljnog metaboličkog statusa kao zavisne (Y) varijable, te dva kriterija intermenstruacijskih raspona –IMR>45 dana, IMR>47 dana identificirana analizom ROC krivulja s pojedinačnim obilježjima nepovoljnog metaboličkog statusa (Tablica 4.4.).

U populaciji nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika, logističkom regresijskom analizom je ustanovljeno da je  $IMR > 45$  dana granična vrijednost koja s optimalnim kompromisom između osjetljivosti i specifičnosti identificira pacijentice s nepovoljnim metaboličkim statusom ( $OS > 80$  cm,  $HOMA-IR > 3,15$  i/ili  $TG > 1,7$  mmol/L). Ispitanice iz neHA-PCOM skupine s  $IMR > 45$  dana imaju 2.5 (interval pouzdanosti 1.5 - 4.4) puta veću vjerojatnost nepovoljnog metaboličkog statusa.

Usporedbom površina ispod ROC krivulja (AUC), nađeno je da IMR ima veću vrijednost (AUC 0,776; 95%CI 0,720-0,827) u predikciji hipertrigliceridemije ( $TG > 1.7$  mmol/L) nego u predikciji ostalih biljega nepovoljnog metaboličkog statusa (Tablica 4.4.). Pokazano je da  $IMR > 45$  dana može predvidjeti da ispitanica u neHA-PCOM skupini ima koncentraciju  $TG > 1.7$  mmol/L s osjetljivošću od 76.5% (95%CI 58,8-89,3) i specifičnošću od 77.3% (95%CI 71,1-82,7), (Slika 4.1.).

Slika 4.1. Analiza vrijednosti IMR u predikciji serumske koncentracije triglicerida iznad preporučenih razina ( $> 1.7$  mmol/L) u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika korištenjem ROC krivulje.



Vrijednost  $P < 0.05$  je smatrana statistički značajnom. Prazni krug označava vrijednost IMR (IMR > 45 dana) koja s optimalnim kompromisom između osjetljivosti i specifičnosti razlikuje nehiperandrogene žene s policističnom morfologijom jajnika koje imaju hipertrigliceridemiju (TG > 1.7 mmol/L) od onih s koncentracijom triglicerida unutar preporučenih granica (IMR > 45 dana). Točkaste crte predstavljaju granice 95%-tnog intervala pouzdanosti.

S obzirom na središnju ulogu inzulinske rezistencije u metaboličkim poremećajima povezanim s PCOS-om, dijagnostička točnost IMR (IMR > 45 dana) u identifikaciji ispitanica studijske skupine s hipertigliceridemijom (TG > 1.7 mmol/L) je uspoređena s onom za identifikaciju ispitanica s inzulinskom rezistencijom (HOMA-IR > 3.15) (AUC 0.646; 95%CI 0.583-0.705;  $P < 0.001$ ). Usporedbom površina ispod ROC-krivulja ustanovljeno je da je vrijednost IMR > 45 dana u identifikaciji ispitanica s inzulinskom rezistencijom bila značajno niža ( $P < 0.02$ ).

S reprodukcijom stajališta, produljenje menstrualnog ciklusa iznad 35 dana smanjuje vjerojatnost postizanja trudnoće u određenom vremenskom periodu. Stoga je ispitana povezanost metaboličkih obilježja s IMR u PCOM-CTRL skupini u ispitanica s IMR-om 35-45 dana, kako bi se procijenio metabolički rizik te skupine. Međutim, nije nađena povezanost niti jednog od testiranih metaboličkih obilježja (ITM, OS, biljezi metabolizma lipida, HOMA-IR, IVD) s IMR u ovoj skupini.

#### **4.5. Metabolička obilježja nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika nakon podjele u skupine prema optimalnoj vrijednosti intermenstrualnog raspona za diskriminaciju prema metaboličkom statusu**

Studijska je skupina neHA-PCOM žena razdijeljena prema optimalnoj graničnoj vrijednosti IMR (> 45 dana) u podskupinu s povoljnijim (PCOM-CTRL) i podskupinu s nepovoljnijim metaboličkim statusom (neHA-PCOS), (Tablica 4.6.).

Tablica 4.6. Klinička, biokemijska, antropometrijska i metabolička obilježja dvije podskupine (PCOM-CTRL i neHA-PCOS) nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika.

<b>Obilježje</b>	<b>CTRL (n=167)</b>	<b>PCOM-CTRL (n=175)</b>	<b>neHA-PCOS (n=75)</b>	<b>HA-PCOS (n=138)</b>
<b>DOB (godine)</b>	33 (30-35)	31 (29-33) <sup>(1),(4)</sup>	30 (28-32) <sup>(1)</sup>	30 (27-33)
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>	23 (21-25)	22 (21-25) <sup>(3),(4)</sup>	24 (21-29) <sup>(1),(2),(4)</sup>	26 (23-31)
<b>OS (cm)</b>	70 (65-78)	70 (65-79) <sup>(3),(4)</sup>	78 (69-86) <sup>(1),(2)</sup>	80 (72-93)
<b>TG (mmol/L)</b>	0,82 (0,62-1,11)	0,85 (0,62-1,15) <sup>(3),(4)</sup>	1,01 (0,74-1,95) <sup>(1),(2)</sup>	1,1 (0,8-1,7)
<b>TC (mmol/L)</b>	5,0 (4,5-5,5)	4,9 (4,3-5,6) <sup>(3),(4)</sup>	5,4 (4,7-6,0) <sup>(1),(2)</sup>	5,1 (4,6-5,7)
<b>LDL-C (mmol/L)</b>	3,0 (2,5-3,4)	2,9 (2,4-3,5) <sup>(3)</sup>	3,3 (2,5-4,0) <sup>(1),(2)</sup>	6,0 (2,5-3,6)
<b>HDL-C (mmol/L)</b>	1,6 (1,4-1,8)	1,5 (1,4-1,8) <sup>(3),(4)</sup>	1,5 (1,2-1,7) <sup>(1),(2)</sup>	1,4 (1,3-1,6)
<b>HOMA-IR</b>	1,78 (1,24-2,36)	1,76 (1,20-2,57) <sup>(3),(4)</sup>	2,39 (1,2-4,8) <sup>(1),(2)</sup>	2,6 (1,8-4,2)
<b>IVD</b>	0,86 (0,58-1,22)	0,86 (0,65-1,40) <sup>(3),(4)</sup>	1,29 (0,80-2,55) <sup>(1),(2)</sup>	1,36 (0,79-2,45)
<b>Testosteron (nmol/L)</b>	1,3 (1,0-1,7)	1,7 (1,3-2,1) <sup>(1),(4)</sup>	1,7 (1,4-2,3) <sup>(1),(4)</sup>	2,7 (1,8-3,2)
<b>mFG</b>	2 (1-3)	3 (1-4) <sup>(1),(4)</sup>	3 (1-4) <sup>(1),(4)</sup>	9 (6-12)

P- vrijednost < 0.05 je smatrana statistički značajnom; <sup>(1)</sup> - značajna razlika u usporedbi s kontrolnom (CTRL) skupinom; <sup>(2)</sup> - značajna razlika u usporedbi s kontrolnom skupinom s PCOM (PCOM-CTRL); <sup>(3)</sup> - značajna razlika u usporedbi s nehiperandrogenom PCOS-

skupinom (neHA-PCOS); <sup>(4)</sup> - značajna razlika u usporedbi s hiperandrogenom PCOS - skupinom (HA-PCOS);

Kada su međusobno uspoređene PCOM-CTRL i neHA-PCOS podskupina, nađene su značajne razlike u svim promatranim metaboličkim obilježjima. Iako su ispitanice u kontrolnoj skupini bile mlađe od ispitanica u PCOM-CTRL skupini, razlike u preostalim promatranim parametrima nisu zabilježene. Usporedba neHA-PCOS s HA-PCOS skupina, s iznimkom razlike u ITM-u, nije otkrila razlike u metaboličkim obilježjima (Tablica 4.6.).

Budući da su se obje neHA-PCOM podskupine razlikovale od kontrolne skupine po dobi, a međusobno i po ITM-u, u cilju procjene povezanosti debljine i opaženih razlika u metaboličkim obilježjima izvršena je usporedba metaboličkih obilježja neHA-PCOS i PCOM-CTRL skupina uz kontrolu ITM i dobi koja je pokazala da je koncentracija triglicerida i dalje značajno različita, dok su se razlike u ostalim metaboličkim obilježjima izgubile.

Statistički značajna razlika u prevalenciji debljine, abdominalne debljine, hipertrigliceridemije i inzulinske rezistencije ustanovljena je kada su PCOS skupine (neHA-PCOS i HA-PCOS) uspoređene s ne-PCOS skupinama (CTRL i PCOM-CTRL). Nakon podjele u podskupine, razlike u učestalosti TC>5.0 mmol/L i LDL-C>3.0 mmol/L među (pod)skupinama nisu ustanovljene ( Tablica 4.7.).

Tablica 4.7. Prevalencija debljine, abdominalne debljine, hipertrigliceridemije i inzulinske rezistencije u studijskim skupinama.

	<b>CTRL</b>	<b>PCOM-CTRL</b>	<b>neHA-PCOS</b>	<b>HA-PCOS</b>
<b>ITM &gt; 29 kg/m<sup>2</sup></b>	7.1	6.8*	20.0	36.2*
<b>WC &gt; 80 cm</b>	17.4	19.4*	38.7	45.7 <sup>†</sup>
<b>TG &gt; 1.7 mmol/L</b>	9.6	4.6*	34.7	26.1 <sup>†</sup>
<b>HOMA-IR</b>	12.6	16.6*	37.3	37.0 <sup>†</sup>

Razlike su testirane  $\chi^2$  testom. P vrijednost < 0.05 je smatrana statistički značajnom.

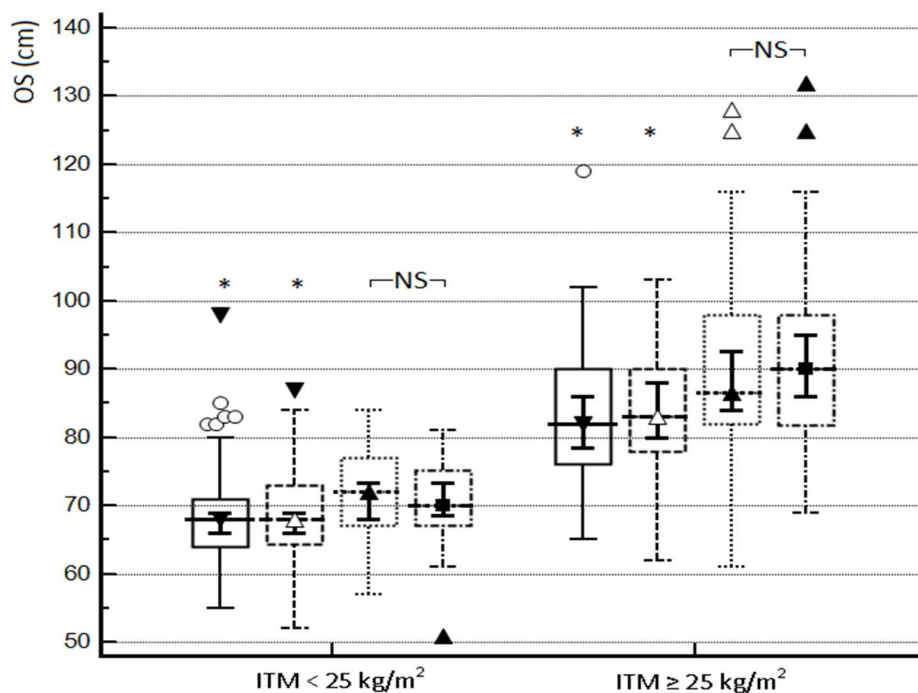
\* - statistički značajna razlika u usporedbi s neHA-PCOS. † - razlika u usporedbi s neHA-PCOS nije statistički značajna.

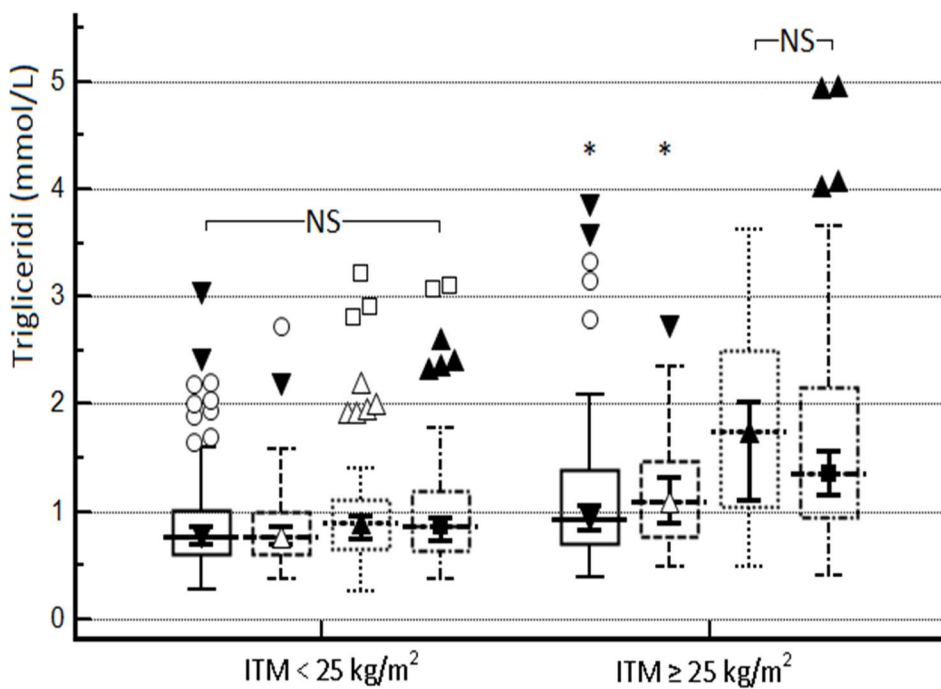
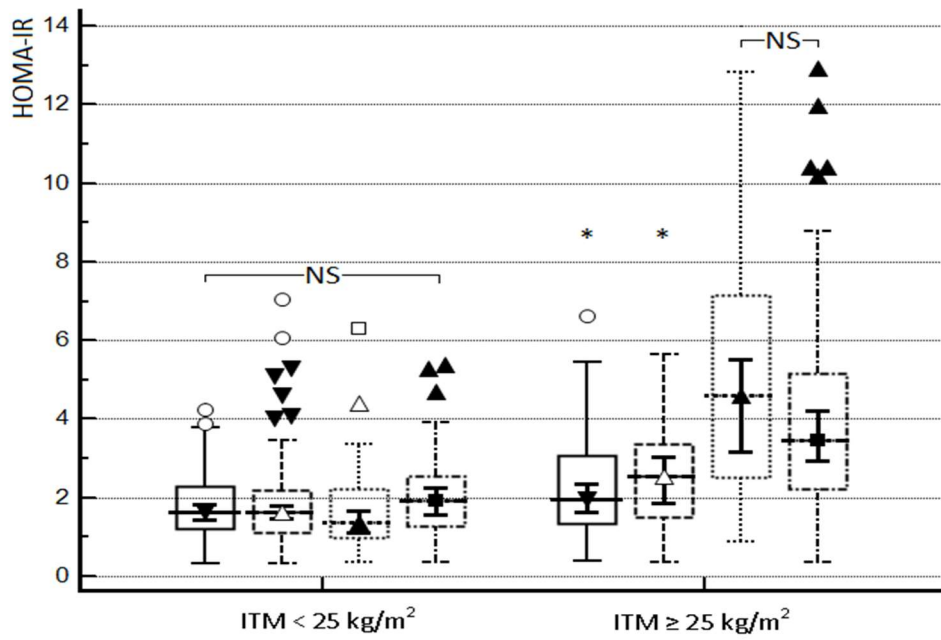
S obzirom na zamijećenu razliku u prevalenciji debljine ( $ITM > 29 \text{ kg/m}^2$ ) između neHA-PCOS te PCOM-CTRL i HA-PCOS (Tablica 4.7.), uspoređena su metabolička obilježja CTRL, PCOM-CTRL, neHA-PCOS i HA-PCOS skupina s normalnom tjelesnom masom ( $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$ ) i s prekomjernom tjelesnom masom ( $ITM \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ).

U ispitanica normalne tjelesne mase, razlika nije zamijećena ni u HOMA-IR-u niti u TG. OS je u obje PCOS skupine bio sličan i značajno veći nego u obje kontrolne skupine.

S druge strane, kod ispitanica s prekomjernom tjelesnom masom ( $ITM \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) metabolički status bio je u neHA-PCOS i HA-PCOS skupini bio sličan i statistički značajno nepovoljniji (širi OS, viša HOMA-IR, veća koncentracija TG) u odnosu na obje kontrolne skupine (CTRL i PCOM-CTRL), (Slika 4.2).

Slika 4.2. Usporedba OS, HOMA-IR i serumskih koncentracija triglicerida u ispitanica normalne tjelesne mase ( $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$ ) i u ispitanica prekomjerne tjelesne mase ( $ITM \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ).





Punom crtom označena je CTRL skupina, isprekidanom crtom kontrolna skupina s PCOM (PCOM-CTRL), točkasto je označena neHA-PCOS skupina, a točka-crtom oznakom HA-PCOS skupina. Središnja crta označava medijan, pravokutnik interkvartilni raspon, a gornja i donja crta granice 95%-tnog intervala pouzdanosti. *P* - vrijednost <0.05 je smatrana statistički

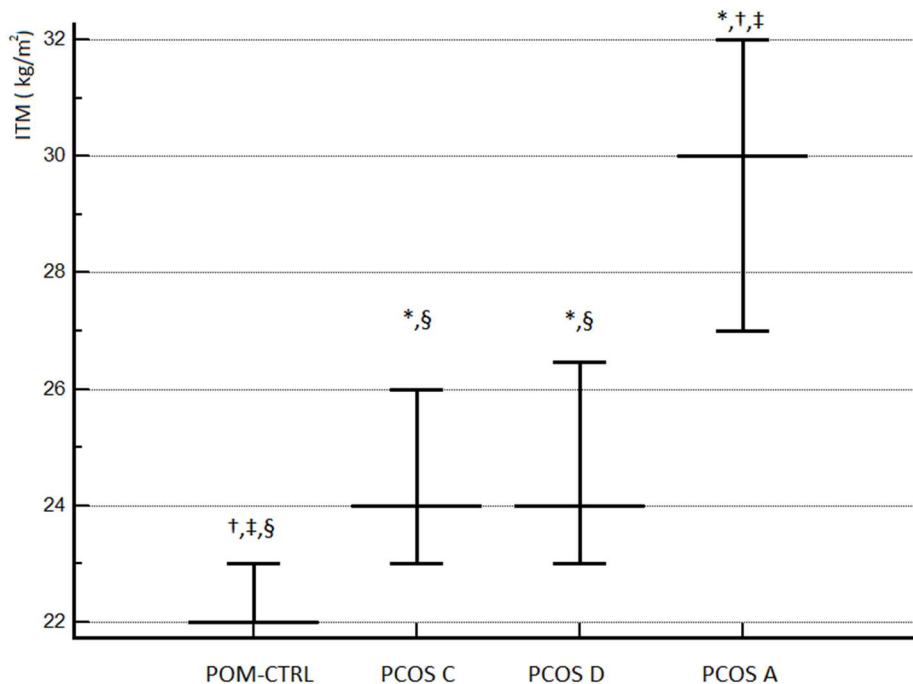


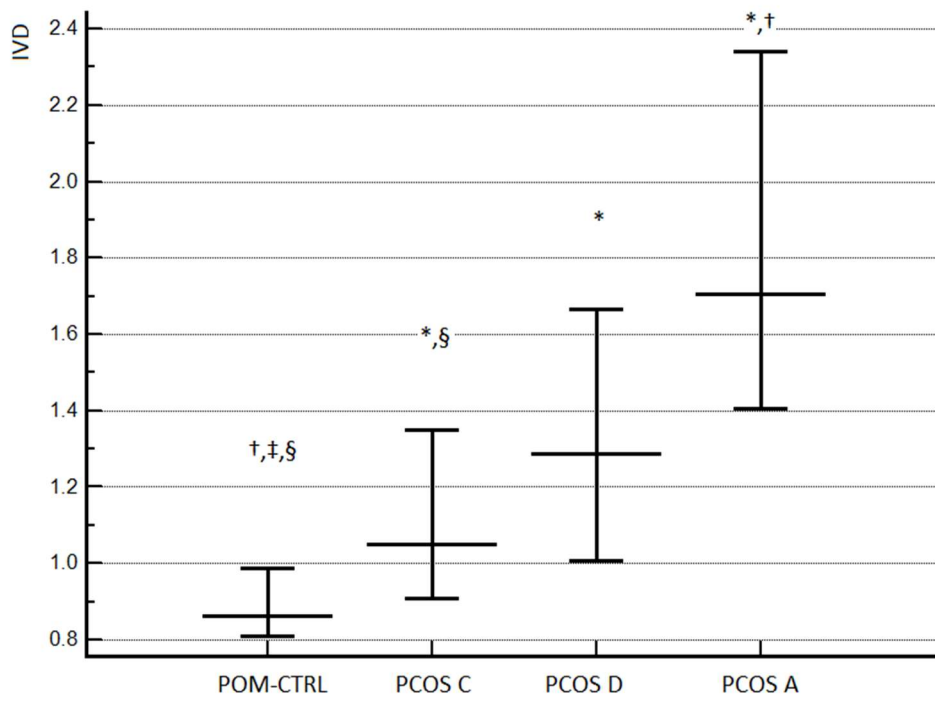
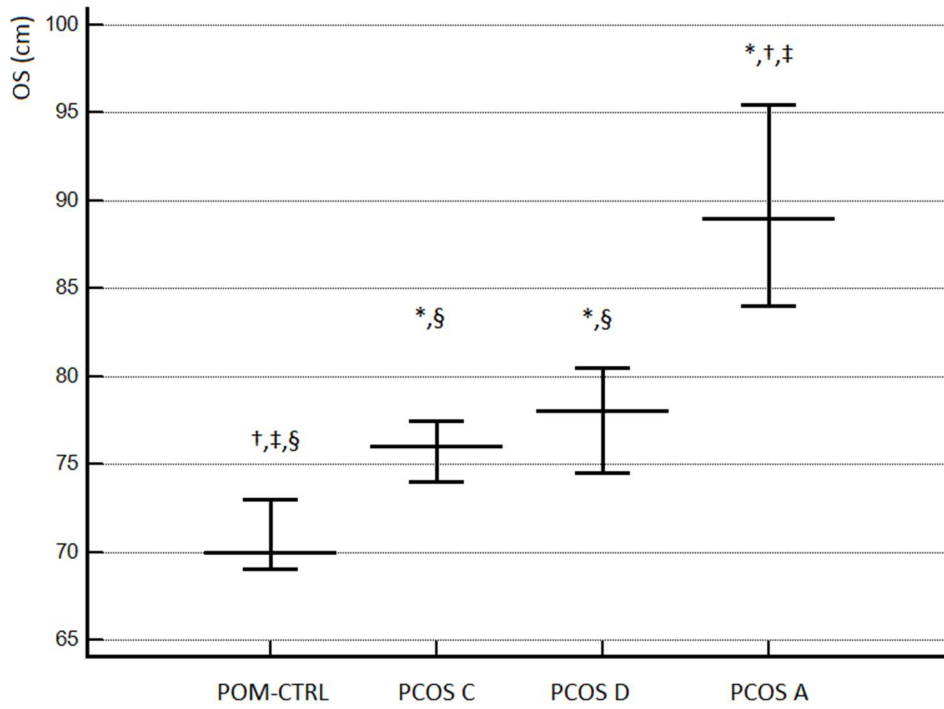
značajnom; \* - statistički značajna razlika u usporedbi s neHA-PCOS i HA-PCOS; NS – razlika nije statistički značajna.

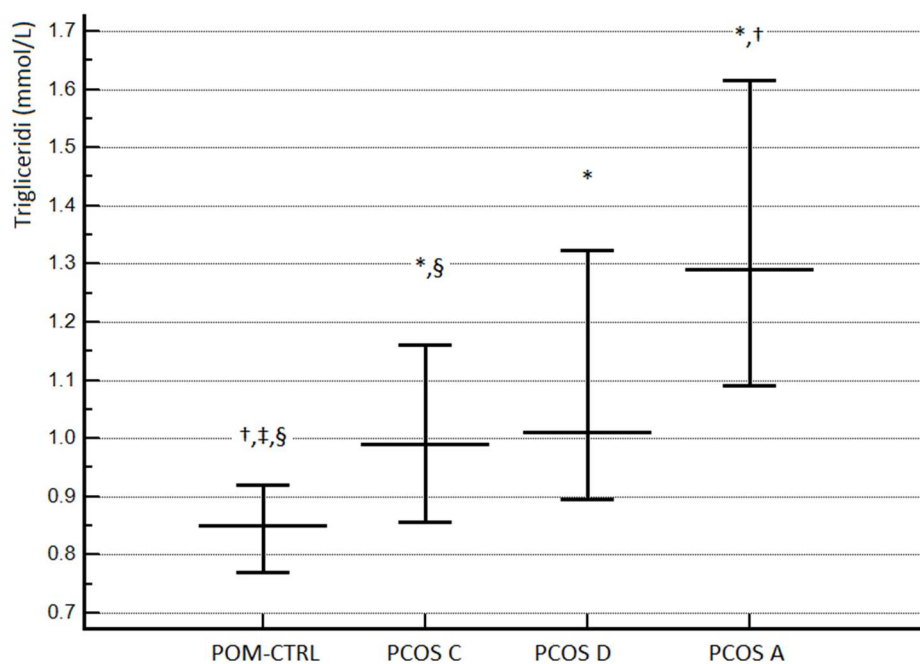
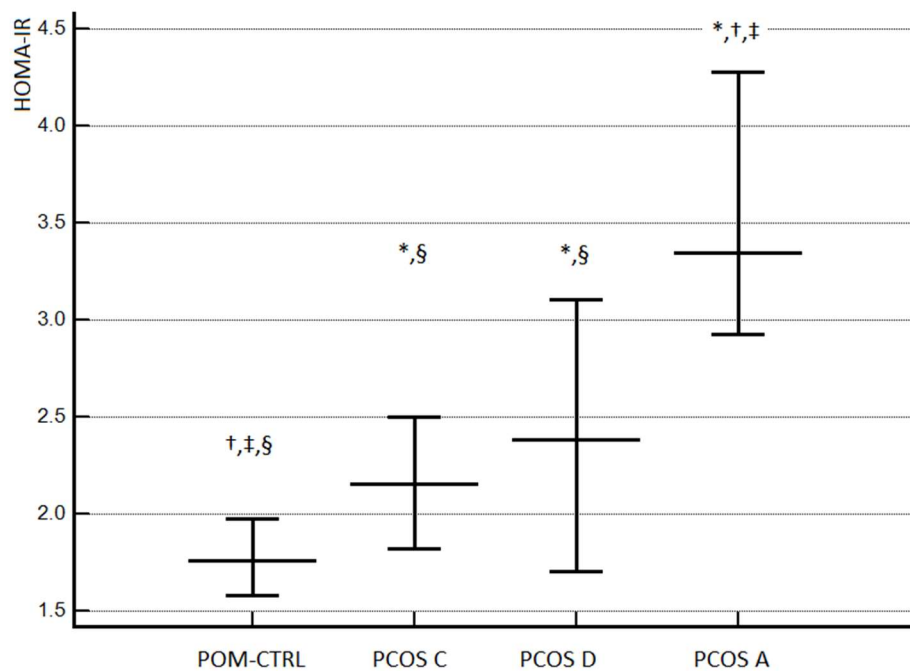
#### 4.6. Usporedba metaboličkih obilježja različitih fenotipova PCOS-a

Naposljetku, kako bi se usporedio metabolički status neHA-PCOS skupine (tj. PCOS D fenotip) s metaboličkim statusom svakog od hiperandrogenih fenotipova PCOS-a pojedinačno (Tablica 1.2.), uz upotrebu ustanovljenog IMR za definiciju oligo- i/ili amenoreje (IMR>45 dana) uspoređeni su biljezi metaboličkog statusa (ITM, HOMA-IR, TG, OS i IVD). Daljnja analiza je ograničena na PCOS A i PCOS C fenotip s obzirom da je PCOS B dijagnosticiran u samo 2 ispitanice (1.4%), (Slika 4.3).

Slika 4.3. Usporedba metaboličkih obilježja ( ITM, HOMA-IR, TG, OS i IVD) u neHA-PCOS (PCOS D) fenotipa s PCOS fenotipom A i C







PCOM-CTRL kontrolna skupina s PCOM (n=175), PCOS C – hiperandrogene, eumonorične ispitanice s policističnom morfologijom jajnika (n=75); PCOS D - nehiperandrogene, oligo- i/ili amenorične ispitanice s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOS skupina; n=77); PCOS A - hiperandrogene, oligo- i/ili amenorične ispitanice s policističnom morfologijom jajnika (n=61).

Središnja horizontalna crta označava medijan, a gornja i donja horizontalna crta granice 95 %-tnog intervala pouzdanosti. *P* - vrijednost <0.05 je smatrana statistički značajnom; \* - statistički značajna razlika u usporedbi s PCOM-CTRL; † - statistički značajna razlika u usporedbi s PCOS C; ‡ - statistički značajna razlika u usporedbi s PCOS D; § - statistički značajna razlika u usporedbi s PCOS A; NS - razlika nije značajna.

PCOS C i PCOS D ispitanice se nisu razlikovale po ITM, OS i IVD, no sva su metabolička obilježja ukazivala na povoljniji metabolički status u odnosu na PCOS A (*P*<0.001).

Usporedba učestalosti obilježja nepovoljnog metaboličkog statusa u fenotipskim podskupinama PCOS-a pokazana je u Tablici 4.8.

Tablica 4.8. Prevalencija debljine, abdominalne debljine, inzulinske rezistencije i hipertrigliceridemije u PCOM-CTRL i fenotipskim podskupinama PCOS-a.

	<b>PCOM-CTRL (%)</b>	<b>PCOS A (%)</b>	<b>PCOS C (%)</b>	<b>PCOS D (%)</b>
<b>Debljina (ITM&gt;29 kg/m<sup>2</sup>)</b>	6,8	55.9*	18.7 <sup>†</sup>	20,9
<b>Abdominalna debljina (OS&gt;80 cm)</b>	19.4	70.5*	26.0 <sup>†</sup>	38.7
<b>Inzulinska rezistencija (HOMA-IR&gt;3.15)</b>	16.6	52.5 <sup>†</sup>	24.7 <sup>†</sup>	37.3
<b>Hipertrigliceridemija (TG&gt;1.7mmol/L)</b>	4.6	34.4 <sup>†</sup>	19.5 <sup>†</sup>	34.7

Razlike su testirane  $\chi^2$  testom. *P* vrijednost < 0.05 je smatrana statistički značajnom. \* - statistički značajna razlika u usporedbi s PCOS D; † - razlika u usporedbi s PCOS D nije statistički značajna.

## 5. RASPRAVA

Intermenstruacijski raspon ili prosječna duljina menstruacijskog ciklusa u prethodnoj godini dana je kriterij koji se u kliničkom radu, ali i većini istraživanja koristi za dijagnozu PCOS-a iako ga kao kriterij za dijagnozu PCOS-a ESHRE/ASRM 2003 definicija ne navodi (10).

U ovom je istraživanju pokazan utjecaj arbitrarnog definiranja oligo/amenoreje na udio nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika koje će biti svrstane u nehiperandrogeni fenotip PCOS-a (Tablica 4.3.), što potencijalno utječe i na metabolički status te skupine. Ustanovljena povezanost intermenstruacijskog raspona i biljega inzulinske rezistencije (HOMA-IR), biljega metabolizma lipida (TG, TC, HDL-C, LDL-C) i općih biljega kardiometaboličkog statusa (ITM, OS, IVD) u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (Tablica 4.2) upućuje na važnost izbjegavanja proizvoljnog odabira intermenstruacijskog raspona koji će definirati produljeni menstruacijski ciklus tj. oligo- i/ili amenoreju i podržava ranije primjedbe na arbitrarno definiranje oligo- i/ili amenoreje u kliničkom i istraživačkom radu (13,15). S obzirom na utjecaj definicije oligo- i/ili amenoreje na prevalenciju neHA-PCOS u neHA-PCOM i povezanost intermenstruacijskog raspona i biljega metaboličkog statusa, može se očekivati formiranje heterogenih kontrolnih i PCOS skupina (Tablica 1.3.). Različite definicije oligo- i/ili amenoreje su stoga, barem jedan od važnih metodoloških razloga zbog kojih dosadašnja istraživanja metaboličkog statusa neHA-PCOS žena nisu polučila jednoznačne zaključke, što je potvrđeno i u nedavno objavljenoj preglednoj studiji (63).

U ovom je istraživanju intermenstruacijski raspon od 45 dana identificiran kao optimalna granična vrijednost koja unutar skupine nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOM) može razlikovati one s nepovoljnim metaboličkim statusom i stoga većim metaboličkim rizikom (neHA-PCOS) od onih koje imaju povoljan metabolički status (PCOM-CTRL).

Granica intermenstruacijskog raspona za definiciju oligo- i/ili amenoreje koja je određena u ovom istraživanju je sukladna s dijelom ranijih istraživanja (65,66). No, samo su u jednom od dostupnih istraživanja iz kontrolne skupine izdvojene asimptomatske žene s izoliranom policističnom morfologijom jajnika (PCOM) koje stoga nisu ispunjavale kriterije za dijagnozu

PCOS-a prema ESHRE/ASRM 2003 definiciji PCOS-a (65). Sukladno sa zaključcima te studije, i na uzorku ovog istraživanja je ustanovljeno da je metabolički status neHA-PCOS žena nepovoljniji u odnosu na kontrolnu skupinu s urednom morfologijom jajnika, tzv. „super-kontrola“.

Iako su ispitanice s policističnom morfologijom jajnika, a bez drugih obilježja PCOS-a, (PCOM-CTRL) bile nešto mlađe od ispitanica u skupini tzv. super-kontrola (CTRL), razlike u metaboličkim obilježjima, uključivo i ITM-e, nisu nađene. Štoviše, isti se zaključak može donijeti i nakon usklađivanja PCOM-CTRL i CTRL skupine po dobi. Usprkos tome što je u ranijem istraživanju metabolički status ispitanica s policističnom morfologijom jajnika, a bez drugih obilježja PCOS-a označen manje povoljnim u odnosu na normoovulatorne, nehiperandrogene ispitanice s urednom morfologijom jajnika, u tom je istraživanju upotrebljena drugačija definicija za policističnu morfologiju jajnika što predstavlja metodološku prepreku za usporedbu rezultata (63). Prema rezultatima ovog istraživanja, metabolički status ne ovisi o morfologiji jajnika u žena koje nisu hiperandrogene i nemaju produljen menstrualni ciklus.

Nakon podjele neHA-PCOM skupine prema određenom optimalnom IMR kriteriju za oligo- i/ili amenoreju, neHA-PCOS ispitanice su, u odnosu na pripadnice PCOM-CTRL, bile deblje, šireg opsega struka, većih serumskih koncentracija TG, TC, LDL-C i IVD te niže razine HDL-C što su metaboličke značajke koje su općenito karakteristične za PCOS (Tablica 4.2.), (78-81). Također je ustanovljen i viši stupanj inzulinske rezistencije kao i veći udio ispitanica s inzulinskom rezistencijom u neHA-PCOS ispitanica u odnosu na PCOM-CTRL što je u skladu sa središnjim mjestom inzulinske rezistencije u patofiziologiji metaboličkih poremećaja povezanih s PCOS-om (Slika 1.4) (63).

Na povezanost debljine s metaboličkim poremećajima u neHA-PCOS-u upućuje nestanak svih razlika u metaboličkim obilježjima između neHA-PCOS i PCOM-CTRL ispitanica nakon usklađivanja po ITM., osim razlike u serumskoj koncentraciji triglicerida. Kako su se i razlike u HOMA-IR između neHA-PCOS i PCOM-CTRL skupine izgubile nakon usklađivanja po ITM, čini se da je debljina presudni čimbenik i za razvoj inzulinske rezistencije u neHA-PCOS ispitanica kao što je to sugerirano u jednom od prethodnih istraživanja, s istim IMR za definiciju oligomenoreje, u kojemu su neHA-PCOS ispitanice uspoređene s kontrolnom skupinom s nepoznatim udjelom POM-CTRL ispitanica (66).

Nadalje, kad su uspoređene pripadnice neHA-PCOS, HA-PCOS te PCOM-CTRL i CTRL skupina normalne tjelesne mase ustanovljene su razlike u OS između PCOS skupina i kontrolnih skupina dok razlike u HOMA-IR i serumskoj razini triglicerida nisu nađene, što upućuje na različitu distribuciju masnog tkiva i u skladu je s rezultatima prethodnog istraživanja (65). S druge strane, usporedba ispitanica s prekomjernom tjelesnom masom pokazala je razliku u sva tri promatrana obilježja između PCOS skupina i kontrolnih skupina (Slika 4.2), što, sukladno zaključcima ranijih istraživanja, sugerira teže metaboličke poremećaje u žena s dijagnozom PCOS-a nego u žena koje nemaju PCOS (3-6).

Međutim, u neHA-PCOM ispitanica, ustanovljeno je da su IMR i HOMA-IR također povezani neovisno o ITM-u, pa se doprinos inherentnog metaboličkog poremećaja odnosno postojanje tzv. intrizične ili o debljini neovisne inzulinske rezistencije ne može isključiti (83). Razlika u razini triglicerida i nakon usklađivanja po dobi i ITM-u upućuje da bi poremećaj u sintezi i sekreciji triglicerida mogao imati i komponentu neovisnu o debljini čemu u prilog govori i ustanovljena, o ITM-u neovisna, povezanost IMR i hipertrigliceridemije (serumska koncentracija triglicerida iznad  $>1.7$  mmol/L) u neHA-PCOM skupini. Razlika u razini triglicerida ne može se objasniti ni aktivnošću androgena kako je to bio slučaj u ranijoj studiji jer razlike u biljezima hiperandrogenizma (testosteron, mFG) nisu nađene (65).

Promatrano zajedno, rezultati usporedbe neHA-PCOS skupine s PCOM-CTRL skupinom upućuju da je metabolički status nehiperandrogenih žena s policističnim jajnicima i intermenstruacijskim rasponom većim od 45 dana nepovoljniji od onog u žena s policističnim jajnicima i istim androgenim statusom, ali menstruacijskim ciklusom kraćim od 45 dana.

Sličan metabolički status ustanovljen je u neHA-PCOS-u i HA-PCOS-u, iako su HA-PCOS ispitanice bile deblje (Tablica 4.5.). Ovaj je rezultat u suglasju s rezultatima prethodnih istraživanja u kojima je upotrebljavan jednaka granična vrijednost za IMR na temelju koje je definirana oligo- i/ili amenoreja, premda su u tim istraživanjima ispitanice bile usklađene po biljezima debljine i abdominalne debljine (65,66). Sličnost metaboličkih statusa neHA-PCOS i HA-PCOS skupine naglašavaju i slična učestalosti abdominalne debljine, inzulinske rezistencije i hipertrigliceridemije (Tablica 4.6.).

S obzirom na očite razlike u androgenom statusu između dvije skupine i sličnost u metaboličkim obilježjima neHA-PCOS i HA-PCOS skupine, te heterogenosti HA-PCOS skupine s obzirom na ovulatorni status, u ovom su istraživanju uspoređena i metabolička obilježja nehiperandrogenog fenotipa PCOS-a (neHA-PCOS skupine odnosno PCOS D fenotip) sa svakim od HA-PCOS fenotipova (tj. PCOS A i PCOS C fenotipa, Tablica 1.2.) razdijeljenih na temelju optimalne granične vrijednosti za intermenstruacijski raspon (IMR>45 dana) ustanovljene u ovom istraživanju (Slika 4.3).

Kada je PCOS D uspoređen s PCOS A ustanovljene su razlike u debljini, stupnju inzulinske rezistencije (HOMA-IR) i abdominalnoj debljini (OS), dok razlike u serumskoj koncentraciji triglicerida i indeksu visceralne debljine (IVD) nisu ustanovljene. Za razliku od veće prevalencije pretilih (ITM>29 kg/m<sup>2</sup>) ispitanica te ispitanica s rizičnom distribucijom masnog tkiva, ispitanica s inzulinskom rezistencijom i ispitanica s hipertrigliceridemijom je bilo podjednako što dodatno ističe približavanje metaboličkih statusa ova dva PCOS fenotipa ukoliko se koristi IMR>45 dana kriterij za definiciju OAM. Ipak, ovi rezultati govore u prilog povoljnijeg metaboličkog statusa PCOS D u odnosu na PCOS A što je u suglasju sa rezultatima ranijih istraživanja (66-68).

U usporedbi sa hiperandrogenim, normoovulatornim ženama s jajnicima policistične morfologije (PCOS C), neHA-PCOS ispitanice su imale jednak stupanj inzulinske rezistencije i imale su jednake serumske koncentracije triglicerida (Slika 4.2.) što podupire nalaze ranijih istraživanja (66,69). Osim toga, nisu se razlikovale u debljini, abdominalnoj debljini niti po indeksu visceralne debljine za koji je nedavno pokazano da dobro pozitivno korelira s metaboličkim rizicima u PCOS-u (41,42). Stoga, ovi rezultati podržavaju rezultate drugih studija koje PCOS D i PCOS C fenotipu pripisuju sličan metabolički rizik.

Sumarno, uz definiciju oligo/amenoreje određene temeljem povezanosti intermenstruacijskog intervala i metaboličkih obilježja, metabolički status u nehipreandrogenih, oligo/anovulatornih žena s policističnom morfologijom jajnika (PCOS D) pokazao se približno jednak normoovulatornim, hiperandrogenim ženama s policističnom morfologijom jajnika (PCOS C). U usporedbi s ova dva fenotipa, pacijentice s potpuno razvijenim, hiperandrogenim, oligo/anovulatornim PCOS-om (PCOS A) su pokazale metabolička obilježja koja upućuju na veći metabolički rizik što je pokazano i u ranijim istraživanjima (84-87). Metabolički statusi normoovulatornih, nehiperandrogenih žena s urednom morfologijom



jajnika (CTRL) i žena s izoliranom policističnom morfologijom jajnika (PCOM-CTRL) se nisu razlikovali, i bili su značajno povoljniji od svih PCOS- fenotipova prema ESHRE-ASRM 2003 definiciji. Stoga, rezultati ovog istraživanja ne mogu poduprijeti isključivanje PCOS D fenotipa iz PCOS-a, odnosno prijedloge za redefiniranje PCOS-a na temelju razlika u metaboličkom statusu između nehiperandrogenog fenotipa i hiperandrogenih fenotipova PCOS-a (11).

Sa reproduksijskog stajališta, a s obzirom da svaka izgubljena ovulacija smanjuje vjerojatnost trudnoće u određenom vremenskom periodu tako se i PCOM-CTRL žene s IMR između 35 i 45 dana može smatrati subfertilnima. No, prema rezultatima ovog istraživanja, isto ne vrijedi i za metabolički status jer produljavanje menstruacijskog ciklusa od 35-45 dana neće imati utjecaj na metabolička obilježja budući da nije ustanovljena povezanost niti jednog od promatranih metaboličkih obilježja i IMR u ovoj skupini .

U zaključku, u ovom je istraživanju ustanovljena povezanost IMR i biljega metaboličkog statusa u neHA-PCOM. Menstracijski ciklus dulji od 45 dana može u skupini nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika identificirati podskupinu s nepovoljnijim metaboličkim statusom. Stoga se menstruacijski ciklus dulji od 45 dana može smatrati biljegom metaboličkog rizika u toj skupini žena. U prilog zadržavanju PCOS-statusa nehiperandrogenih, oligoovulatornih žena s policističnom morfologijom jajnika (PCOS D) govori metabolički status sličan metaboličkom statusu hiperandrogenih, ovulatornih žena s policističnom morfologijom jajnika (PCOS C), te nepovoljniji metabolički status u usporedbi sa ženama s izoliranom policističnom morfologijom jajnika bez drugih kriterija za dijagnozu PCOS-a (PCOM-CTRL). S obzirom da je u podlozi nepovoljnog metaboličkog statusa inzulinska rezistencija povezana s debljinom čini se potrebnim objektivizirati rizike, tj. odrediti biokemijske i antropološke biljege metaboličkog rizika, informirati pacijenticu i, po potrebi, terapijski djelovati u cilju smanjenja tjelesne težine i smanjenja inzulinske rezistencije.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Povezanost intermenstruacijskog raspona i biljega inzulinske rezistencije (HOMA-IR), biljega metabolizma lipida (TG, TC, HDL-C, LDL-C) i općih biljega metaboličkog statusa (ITM, OS, IVD) u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (Tablica 4.2) upućuje na važnost izbjegavanja proizvoljnog odabira intermenstruacijskog raspona koji će definirati produljeni menstruacijski ciklus tj. oligo- i/ili amenoreju.
2. Intermenstruacijski raspon od 45 dana identificiran je kao optimalna granična vrijednost koja unutar skupine nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOM) može razlikovati one s nepovoljnim metaboličkim statusom, i stoga većim metaboličkim rizikom (neHA-PCOS), od onih koje imaju povoljan metabolički status (PCOM-CTRL).
3. Metabolički status nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i intermenstruacijskim intervalom do 45 dana sličan je metaboličkom statusu zdravih, normoovulatornih, nehiperandrogenih žena s urednom morfologijom jajnika.
4. Metabolički status nehiperandrogenih žene s policističnom morfologijom jajnika i intermenstruacijskim intervalom duljim od 45 dana sličan je metaboličkom statusu sličan žena s hiperandrogenim PCOS-om.
5. Metabolički status nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i intermenstruacijskim intervalom duljim od 45 dana sličan je metaboličkom statusu normoovulatornih, hiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika i povoljniji u odnosu na metabolički status žena s potpuno razvijenim PCOS-om.
6. S metaboličkog stajališta, rezultati ovog istraživanja govore u prilog uključivanja fenotipa koji obuhvaća nehiperandrogene žene s policističnom morfologijom jajnika i intermenstruacijskim intervalom duljim od 45 dana u PCOS što je u skladu s ESHRE/ASRM 2003 definicijom.

## 7. SAŽETAK

Prema ESHRE/ASRM 2003 definiciji, za dijagnozu sindroma policističnih jajnika (PCOS) potrebno je utvrditi barem dva od tri sljedeća obilježja: oligo/anovulaciju (OA), hiperandrogenizma (HA) i policističnu morfologiju jajnika (PCOM). Tako su i nehiperandrogene žene s PCOM i OA uključene u PCOS (neHA-PCOS).

Istraživanja koja su se bavila metaboličkim statusom žena s nehiperandrogenim PCOS-om nisu polučila jednoznačne zaključke što je dovelo do prijedloga za isključivanje tog fenotipa iz PCOS-a. Međutim, u tim istraživanjima se, kao klinički biljeg za OA, uglavnom koristila oligo/amenoreja (OAM). S obzirom da je granična vrijednost intermenstruacijskog raspona (IMR) za definiciju OAM postavljena arbitrarno, različiti zaključci su, potencijalno, odraz metodoloških razlika u tim istraživanjima.

Cilj istraživanja: Ustanoviti postoji li povezanost između IMR i metaboličkih obilježja u nehiperandrogenih žena s policističnom morfologijom jajnika (neHA-PCOM), odrediti graničnu vrijednosti IMR koja razdjeljuje neHA-PCOM žene prema metaboličkom riziku, usporediti metabolički status nehiperandrogenog fenotipa PCOS-a, hiperandrogenih fenotipova PCOS-a, kontrolne skupine s PCOM (PCOM-CTRL) i kontrolne skupine s urednom morfologijom jajnika (CTRL).

Ispitanici i metode: Ispitanice (N=555) su razvrstane u tri skupine prema ESHRE/ASRM 2003 definiciji: CTRL (n=167), neHA-PCOM (n=250) i HA-PCOS (n=138). Metabolički status je procjenjivan na temelju: indeksa tjelesne mase (ITM), opsega struka, homeostatskog modela procjene inzulinske rezistencije (HOMA-IR), indeksa visceralne debljine (IVD), koncentracija triglicerida (TG) te ukupnog (TC) i kolesterola u lipoproteinima niske (LDL-C) i visoke (HDL-C) gustoće.

Rezultati: U neHA-PCOM skupini ustanovljena je povezanost IMR s ITM, OS, HOMA-IR te TG, TC, HDL-C, LDL-C i IVD. Pokazano je da  $IMR > 45$  dana ima najveću vrijednost u identifikaciji neHA-PCOM ispitanica s nepovoljnim metaboličkim statusom. Ustanovljeno je da neHA-PCOS i HA-PCOS ispitanice imaju sličan metabolički status i nepovoljniji u odnosu na POM-CTRL i CTRL ispitanice. Metabolički status u nehiperandrogenom fenotipu PCOS-a

je bio sličan hiperandrogenom, normoovulatornom fenotipu PCOS-a i povoljniji od oligo/anovulatornog, hiperandrogenog fenotipa PCOS-a.

Zaključak: Menstruacijski ciklus dulji od 45 dana identificira neHA-PCOM žene s nepovoljnim metaboličkim statusom. Sličan metabolički status ustanovljen je u nehiperandrogenih žena s menstruacijskim ciklusom duljim od 45 dana i hiperandrogenih žena s PCOS-om što govori u prilog dijagnozi PCOS-a prema ESHRE/ASRM 2003 definiciji.

Ključne riječi: PCOS, metabolizam, menstruacijski ciklus, oligomenoreja

## 8. SUMMARY

### THE ASSOCIATIONS BETWEEN INTERMENSTRUAL RANGE AND THE METABOLIC CHARACTERISTICS IN NON-HYPERANDROGENIC WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARIAN MORPHOLOGY

According to the ESHRE/ASRM 2003 definition, polycystic ovary syndrome (PCOS) diagnosis requires the presence of at least two of the following criteria – oligo/anovulation (OA), hyperandrogenism (HA) and polycystic ovarian morphology (PCOM), and the exclusion of other endocrinologic disorders presenting with similar clinical manifestations.

Thus, by ESHRE/ASRM 2003 definition, non-hyperandrogenic PCOS is defined by the presence of both, PCOM and OA. More recent proposal of PCOS diagnostic criteria (AES, 2006), driven by undetermined metabolic risks of non-hyperandrogenic phenotype, did not include it in PCOS.

Several methodological issues emerging from ESHRE/ASRM 2003 PCOS definition could lead to this divergence.

ESHRE/ASRM 2003 definition did not provide the methodology for OA determination. Due to the complexity of determining OA by serial ultrasonography or serial hormone measurements, the studies investigating the metabolic status of non-hyperandrogenic PCOS usually use oligo/amenorrhoea (OAM) as a clinical surrogate marker for OA. However, the intermenstrual ranges (IMR) used for OAM were imposed arbitrarily and differentiate from one study to another which leads to the heterogeneity of study participants, both non-hyperandrogenic PCOS and controls, and, finally, to the unequivocal study results. Altogether, this could explain why the metabolic status of non-hyperandrogenic phenotype of PCOS with respect to healthy controls is still matter of an ongoing debate.

Objective: To investigate associations between IMR and metabolic markers in non-hyperandrogenic women with polycystic ovarian morphology (neHA-PCOM), to determine the threshold for IMR able to discriminate neHA-PCOM participants according to their

metabolic risk and to compare the metabolic status of both neHA-PCOS and PCOM groups with controls and HA-PCOS.

**Participants and methods:** Participants (N=555) were separated in three groups according to ESHRE/ASRM 2003 criteria: CTRL (n=167), neHA-PCOM (PCOM+OA; n=250) and HA-PCOS (n=138). Metabolic status was assessed using: body mass index (ITM), waist circumference (OS), homeostatic model of insulin resistance assessment (HOMA-IR), visceral adiposity index (IVD), concentration of triglycerides (TG) and total (TC), low density lipoprotein (LDL-C) and high density lipoprotein (HDL-C) cholesterol.

**Results:** The associations between IMR and ITM, OS, HOMA-IR, TG, TC, HDL-C, LDL-C and IVD were found in non-hyperandrogenic participants with polycystic ovarian morphology. In this group, IMR>45 days demonstrated the best performance in identifying participants with unfavorable metabolic status. Non-hyperandrogenic PCOS and HA-PCOS group showed similar metabolic statuses which were more unfavorable in comparison with PCOM-CTRL and CTRL groups. Metabolic status in non-hyperandrogenic PCOS was similar to PCOS C and more favorable than in PCOS A.

**Conclusion:** Among non-hyperandrogenic women with polycystic ovaries, menstrual cycle length >45 days could identify those with unfavorable metabolic status. Using that criterion for definition of oligo/anovulation, non-hyperandrogenic PCOS and HA-PCOS was found to have similar metabolic status which speaks in favor of inclusion of this phenotype in PCOS as suggested by ESHRE/ASRM 2003 definition.

**Key word:** PCOS, metabolism, menstrual cycle, oligomenorrhoea

## 9. LITERATURA

1. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, i sur. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4006–11.
2. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2010;25:544-51.
3. Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, Nestler JE. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1929–35.
4. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:165–9.
5. Meyer C, McGrath BP, Teede HJ. Overweight women with polycystic ovary syndrome have evidence of subclinical cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5711–6.
6. Boomsma CM, Eijkemans MJ, Hughes EG, Visser GH, Fauser BC, Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2006;12:673–83.
7. Escobar-Morreale HF, San Millán JL. Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab.* 2007 Sep;18(7):266-72.
8. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Legro RS, Balen AH, Lobo R, i sur. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2012;97:28-38.e25.
9. National Institutes of health sponsored conference on PCOS, 1990.
10. ESHRE/ASRM. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2004;81:19-25.
11. Azziz R1, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, i sur. Task Force on the Phenotype of the Polycystic Ovary Syndrome of The Androgen Excess and PCOS Society. The Androgen Excess and PCOS Society

- criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*. 2009 Feb;91(2):456-88.
12. National Institutes of health. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome, Dec 3-5, 2012. [<http://prevention.nih.gov/docs/programs/pcos/FinalReport.pdf>]
  13. Geithövel F. A comment on the European Society of Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine consensus of the polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2003 Dec;7(6):602-5.
  14. Azziz R PCOS: a diagnostic challenge. *Reprod Biomed Online*. 2004 Jun;8(6):644-8.
  15. Geithövel F, Rabe T. The ESHRE/ASRM consensus on polycystic ovary syndrome (PCOS) - an extended critical analysis. *Reprod Biomed Online* 2007;14:522-35.
  16. Speroff L, Glass RH, Case NG, ur. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 6. izdanje, Baltimore, SAD, 1999.
  17. Homburg R. Androgen circle of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2009;24(7):1548-55.
  18. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140:815-30.
  19. Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Extensive clinical experience: relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2–6
  20. Rosner W, Auchus RJ, Azziz R, Sluss PM, Raff H. Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Feb;92(2):405-13.
  21. Balen AH, Laven JSE, Tan SL, Dewailly D. The ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. ASRM/ESHRE consensus meeting on polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2003;9:505-14.
  22. Legro RS, Chiu P, Kunselman AR, Bentley CM, Dodson WC, Dunaif A. Polycystic ovaries are common in women with hyperandrogenic chronic anovulation but do not predict metabolic or reproductive phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2571–9.
  23. DeFronzo RA. The triumvirate:-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988;37:667– 87
  24. Bergman RN Orchestration of glucose homeostasis:from a small acorn to the California oak. *Diabetes* 2007; 56:1489 –501



25. Groop LC, Bonadonna RC, Simonson DC, Petrides AS, Shank M, DeFronzo RA. Effect of insulin oxidative and nonoxidative pathways of free fatty acid metabolism in human obesity. *Am J Physiol* 1992;263:E79–84
26. Bergman RN, Mittelman SD. Central role of the adipocyte in insulin resistance. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1998;9:205–21.
27. Rebrin K, Steil GM, Getty L, Bergman RN. Free fatty acid as a link in the regulation of hepatic glucose output by peripheral insulin. *Diabetes* 1995;44:1038–45
28. Rebrin K, Steil GM, Mittelman SD, Bergman RN. Causal linkage between insulin suppression of lipolysis and suppression of liver glucose output in dogs. *J Clin Invest* 1996;98:741–9
29. Diamanti-Kandarakis E I, Argyrakopoulou G, Economou F, Kandaraki E, Koutsilieris M. Defects in insulin signaling pathways in ovarian steroidogenesis and other tissues in polycystic ovary syndrome (PCOS). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;109(3-5):242-6
30. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Trends Mol Med.* 2006;12(7):324-32.
31. Bergman RN, Phillips LS, Cobelli C. Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of insulin sensitivity and beta-cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. *J Clin Invest* 1981;68:1456–67.
32. Bergman RN. Toward physiological understanding of glucose tolerance. Minimal model approach. *Diabetes* 1989;38:1512–1527.
33. Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, Green G, Dobrjansky A, Licholai T. Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1992; 41: 1257–66.
34. Dunaif, K.R. Segal, W. Futterweit, A. Dobrjansky. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome, *Diabetes* 1989;38(9) (1989):1165–74
35. Norman RJ I, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet.* 2007(25);370(9588):685-97.
36. F. Lunger, L. Wildt, B. Seeber, Accurate screening for insulin resistance in PCOS women using fasting insulin concentrations. *Gynecol Endocrinol* 2013;29: 541–4.
37. F. Alvarez-Blasco, J.I. Botella-Carretero, J.L. San Millan, H.F. Escobar-Morreale, Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women. *Arch Intern Med* 2006;166:2081–6.

38. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev* 2012;33:981-1030.
39. Alebić MS, Bulum T, Stojanović N, Duvnjak L. Definition of insulin resistance using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) in IVF patients diagnosed with polycystic ovary syndrome (PCOS) according to the Rotterdam criteria. *Endocrine* 2014; Feb 13. [Epub ahead of print]
40. De Backer G1, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, i sur. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J.* 2003;24(17):1601-10.
41. Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, Galluzzo A; AlkaMeSy Study Group. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care.* 2010;33(4):920-2.
42. Amato MC1, Verghi M, Galluzzo A, Giordano C. The oligomenorrhoeic phenotypes of polycystic ovary syndrome are characterized by a high visceral adiposity index: a likely condition of cardiometabolic risk. *Hum Reprod.* 2011;26(6):1486-94.
43. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106: 3143–421.
44. Carmina E1, Legro RS, Stamets K, Lowell J, Lobo RA. Difference in body weight between American and Italian women with polycystic ovary syndrome: influence of the diet. *Hum Reprod.* 2003;18(11):2289-93.
45. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG, Kandarakis SA, Chrousos GP. Pathophysiology and types of dyslipidemia in PCOS. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18(7):280-5.
46. Legro RS1, Kunselman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001;111(8):607-13.
47. Robinson S, Henderson AD, Gelding SV, Kiddy D, Niththyananthan R, Bush A, i sur. Dyslipidaemia is associated with insulin resistance in women with polycystic ovaries. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 1996;44: 277–84.
48. Meiorow D, Raz I, Yossepowitch O, Brzezinski A, Rosler A, Schenker JG, i sur. Dyslipidaemia in polycystic ovarian syndrome: different groups, different aetiologies? *Hum. Reprod* 1996;11:1848–53.

49. Diamanti-Kandarakis E, Mitrakou A, Raptis S, Tolis G, Duleba AJ. The effect of a pure antiandrogen receptor blocker, flutamide, on the lipid profile in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2699–705.
50. Talbott E, Clerici A, Berga SL, Kuller L, Guzick D, Detre K, et al. Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol* 1998;51: 415–22
51. Dejager S, Pichard C, Giral P, Bruckert E, Federspiel MC, Beucler I, et al. Smaller LDL particle size in women with polycystic ovary syndrome compared to controls. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;54: 455–62
52. Orio F Jr, Palomba S, Spinelli L, Cascella T, Tauchmanová L, Zullo F, et al. The cardiovascular risk of young women with polycystic ovary syndrome: an observational, analytical, prospective case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89, 3696–701
53. Yildirim B1, Sabir N, Kaleli B. Relation of intra-abdominal fat distribution to metabolic disorders in monobese patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79: 1358–64
54. Herbst KL, Amory JK, Brunzell JD, Chansky HA, Bremner WJ. Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284: E1112–8
55. Tan KC1, Shiu SW, Kung AW. Alterations in hepatic lipase and lipoprotein subfractions with transdermal testosterone replacement therapy. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 1999;51:765–9.
56. Pirwany IR1, Fleming R, Greer IA, Packard CJ, Sattar N. Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;54: 447–53.
57. Croston GE, Milan LB, Marschke KB, Reichman M, Briggs MR. Androgen receptor-mediated antagonism of estrogen-dependent low density lipoprotein receptor transcription in cultured hepatocytes. *Endocrinology* 1997;138:3779–86.
58. Kumar MV, Leo ME, Tindall DJ.. Modulation of androgen receptor transcriptional activity by the estrogen receptor. *J. Androl.* 1994;15: 534–42.
59. Enerbäck S, Gimble JM. Lipoprotein lipase gene expression: physiological regulators at the transcriptional and posttranscriptional level. *Biochim Biophys Acta* 1993;1169:107–25.

60. Iverius PH, Brunzell JD. Relationship between lipoprotein lipase activity and plasma sex steroid level in obese women. *J Clin Invest* 1988;82:1106–12
61. Lithell H, Nillius SJ, Bergh T, Selinus I. Metabolic profile in obese women with the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes* 1987;11: 1–8
62. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C, i sur. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Human Reproduction* 1995;10:2705-12.
63. Moran L, Teede H. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2009;15:477-88.
64. Norman RJ, Hague WM, Masters SC, Wang XJ. Subjects with polycystic ovaries without hyperandrogenaemia exhibit similar disturbances in insulin and lipid profiles as those with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1995;10:2258–2261.
65. Dewailly D, Catteau-Jonard S, Reyss AC, Leroy M, Pigny P. Oligoanovulation with polycystic ovaries but not overt hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3922-7.
66. Kauffman RP, Baker VM, Dimarino P, Gimpel T, Castracane VD. Polycystic ovarian syndrome and insulin resistance in white and Mexican American women: a comparison of two distinct populations. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1362–9
67. Welt CK, Gudmundsson JA, Arason G, Adams J, Palsdottir H, Gudlaugsdottir G, i sur. Characterizing discrete subsets of polycystic ovary syndrome as defined by the Rotterdam criteria: the impact of weight on phenotype and metabolic features. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4842-8.
68. Barber TM, Wass JA, McCarthy MI, Franks S. Metabolic characteristics of women with polycystic ovaries and oligo-amenorrhoea but normal androgen levels: implications for the management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2007;66:513-7.
69. Shroff R, Syrop CH, Davis W, Van Voorhis BJ, Dokras A. Risk of metabolic complications in the new PCOS phenotypes based on the Rotterdam criteria. *Fertil Steril* 2007;88:1389–95.
70. Clayton RN, Ogden V, Hodgkinson J, Worswick L, Rodin DA, Dyer S, i sur. How common are polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the fertility of the population? *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;37:127–34.
71. Kousta E, White DM, Cela E, McCarthy MI, Franks S. The prevalence of polycystic ovaries in women with infertility. *Hum Reprod* 1999; 14:2720–3.

72. Adams JM, Taylor AE, Crowley WF Jr, Hall JE. Polycystic ovarian morphology with regular ovulatory cycles: insights into the pathophysiology of polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4343–50.
73. Lakhani K, Seifalian AM, Hardiman P. Impaired carotid viscoelastic properties in women with polycystic ovaries. *Circulation* 2002;106:81–5.
74. Michelmore K, Ong K, Mason S, Bennett S, Perry L, Vessey M, Balen A, Dunger D. Clinical features in women with polycystic ovaries: relationships to insulin sensitivity, insulin gene VNTR and birth weight. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55:439–46.
75. Chae SJ, Kim JJ, Choi YM, Hwang KR, Jee BC, Ku SY, Suh CS, Kim SH, Kim JG, Moon SY. Clinical and biochemical characteristics of polycystic ovary syndrome in Korean women. *Hum Reprod* 2008;23:1924–1931.
76. Adams J, Franks S, Polson DW, Mason HD, Abdulwahid N, Tucker M, Price J, Jacobs HS. Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone. *Lancet* 1985;2:1375–1379.
77. D. Matthews, J. Hosker, A. Rudenski, B. Naylor, D. Treacher, R. Turner. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 1985;28:12–9.
78. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J; IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *Lancet* 2005(24-30);366(9491):1059–62.
79. Wild RA. Obesity, lipids, cardiovascular risk, and androgen excess. *Am J Med* 1995;98: S 27–32
80. Talbott E, Guzick D, Clerici A, Berga S, Detre K, Weimer K, i sur. Coronary heart disease risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Arter Throm Vas Biol* 1995;15:821–6.
81. Conway GS, Agrawal R, Betteridge DJ, Jacobs HS. Risk factors for coronary artery disease in lean and obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;37:119–125.
82. Wild RA, Bartholomew MJ. The influence of body weight on lipoprotein lipids on patients with polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:423–7.
83. H.J. Teede, S.K. Hutchison, S. Zoungas, The management of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18:273–9.
84. Belosi C, Selvaggi L, Apa R, Guido M, Romualdi D, Fulghesu AM, i sur. Is the PCOS diagnosis solved by ESHRE/ASRM. *Hum Reprod* 2006; 21:3108–15.

85. Hsu MI, Liou TH, Chou SY, Chang CY, Hsu CS. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome in Taiwanese Chinese women: comparison between Rotterdam 2003 and NIH 1990. *Fertil Steril* 2007; 88:727–9.
86. Pehlivanov B, Orbetzova M. Characteristics of different phenotypes of polycystic ovary syndrome in a Bulgarian population. *Gynecol Endocrinol* 2007; 23:604–9.
87. Broekmans FJ, Knauff EA, Valkenburg O, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BC. PCOS according to the Rotterdam consensus criteria: change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors. *BJOG* 2006;113:1210–17.

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 1. prosinca 1972. u Sinju. Nakon završene srednje škole u Sinju, 1990. godine sam se upisao, a 1996. diplomirao na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te sam stekao zvanje doktora medicine. Nakon specijalizacije iz ginekologije i porodništva u KB Merkur, bio sam zaposlen u Poliklinici Osiguranje - Nemetova, Zagreb, u kojoj sam od 2004.-2006. radio kao ginekolog, a pred kraj i kao zamjenik ravnatelja. Pred kraj 2006. godine pozvan sam na Odsjek za humanu reprodukciju Sveučilišne klinike Vuk Vrhovac, Zagreb, gdje sam izvršio i glavnu obvezu vezanih uz užu specijalizaciju iz humane reprodukcije. Subspecijalistički ispit sam položio 2009. godine. Od studenog 2010. imenovan sam voditeljem Odjela za humanu reprodukciju KB Merkur gdje radim i danas.

Znanstveni interes mi je usmjeren na specifična područja ginekološke endokrinologije i medicinski pomognute oplodnje; reprodukcijski i metabolički aspekti sindroma policističnih jajnika i predikcija ishoda IVF postupaka. Voditelj sam kliničkih istraživanja "Opravdanost probira nasljedne trombofilije u žena s jednim ili više spontanih pobačaja u anamnezi prije postupka medicinski potpomognute oplodnje" i "Evaluacija kliničke vrijednosti mjerenja koncentracije anti-Müllerovog hormona u serumu prije postupka medicinski pomognute oplodnje". Aktivno sam sudjelovao na brojnim domaćim i međunarodnim znanstvenim skupovima, a posebno ističem nagradu za najbolju oralnu prezentaciju na 9<sup>th</sup> Congress of the European Society of Gynecology, Copenhagen, 8-11 September 2011. (The relationships between serum anti-Müllerian hormone (AMH) level and the clinical and biochemical characteristics of women with polycystic ovaries).

Član sam European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) i Hrvatskog društva za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (HDGEHR).

Oženjen sam i otac dvoje djece.

### **Popis objavljenih radova**

Alebić MŠ, Bulum T, Stojanović N, Duvnjak L. Definition of insulin resistance using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) in IVF patients diagnosed with polycystic ovary syndrome (PCOS) according to the Rotterdam criteria. *Endocrine* 2014, Feb 13.

Alebić, MŠ, Stojanović, N. Dehydroepiandrosterone sulphate and prediction of live birth after IVF in young women with low anti-Müllerian hormone concentration. *Reprod. BioMed.* Online 2014; 28:191-197.

Alebić, MŠ, Stojanović N, Žuvić-Butorac M. The IVF outcome counseling based on the model combining DHEAS and age in patients with low AMH prior to the first cycle of GnRH antagonist protocol of ovarian stimulation. *Int J Endocrinol* 2013;2013:637919.

Miro Šimun Alebić, Lea Duvnjak. Metabolic risk markers in women with polycystic ovarian morphology. *Diabetologia Croatica* 2010, 39:9-13.