



## **Središnja medicinska knjižnica**

**Zlopaša, Gordan (2011) *Adipokini u bolesnica sa sindromom policističnih jajnika [Adipokines in patients with polycystic ovary syndrome].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/1469>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

Gordan Zlopaša

**ADIPOKINI U BOLESNICA SA  
SINDROMOM POLICISTIČNIH JAJNIKA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2011. godina

Rad je izrađen u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sklopu projekta „Etiologija i patogeneza PCOS – odabir terapije i metaboličke posljedice“ Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa br. 108-0000000-0388.

Voditelj rada je doc. dr. sc. Dinka Pavičić Baldani iz Klinike za ženske bolesti i porode KBC – a i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Redni broj rada: \_\_\_\_\_

Zahvaljujem se mentorici i dragoj kolegici doc. dr. sc. Dinki Pavičić Baldani na nesebičnoj pomoći, strpljenju i stručnim savjetima prilikom izrade ovog rada te dobroti kakva se danas rijetko susreće.

Zahvaljujem dr. Josipu Jurasu na velikoj pomoći i požrtvovnosti tijekom statističke obrade podataka.

Hvala dr. sc. Saši Kralik na pomoći i velikom trudu uloženom u izradu laboratorijskih nalaza potrebnih za ovo istraživanje.

Veliko hvala dr. Lani Jeren Škrgatić na pomoći u obradi podataka, moralnoj podršci, dobronamjernosti i susretljivosti uvijek kada je to bilo potrebno.

Rad posvećujem svojim najdražima : Luciji, Franu i Ozrenki - samo vi dajete smisao svemu što radim...

# SADRŽAJ

1.0. UVOD.....	1
1.1. Definicija PCOS.....	2
1.2. Dijagnostički kriteriji PCOS.....	2
1.3. Incidencija PCOS.....	5
1.4. Dijagnoza i klinička slika PCOS.....	5
1.4.1. Oligo-anovulacija .....	6
1.4.2. Klinički hiperandrogenizam i/ili biokemijska hiperandrogenemija...	6
1.4.3. Ultrazvučni nalaz policističnih jajnika .....	7
1.4.4. Isključenje bolesti koje se slično manifestiraju.....	8
1.5. Etiologija PCOS .....	8
1.6. Patogeneza PCOS .....	10
1.6.1. Poremećaj rasta i razvoja folikula .....	10
1.6.2. Neuroendokrinološki poremećaji.....	11
1.6.3. Utjecaj inzulina i inzulinske rezistencije .....	11
1.6.4. Poremećaj masnog tkiva i uloga adipokina.....	13
1.7. Posljedice i rizici PCOS. ....	19
2.0. HIPOTEZE .....	20
3.0. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	20
4.0. ISPITANICE I METODE .....	21
4.1. Ispitanice .....	21
4.1.1. Istraživana skupina žena s PCOS .....	21
4.1.2. Kontrolna skupina zdravih žena .....	22
4.2. Metode .....	22
4.2.1 Klinička i biokemijska analiza .....	24
4.3. Statistička obrada .....	30
4.4. Etička načela .....	30
5.0. REZULTATI .....	31
5.1. Kliničke, hormonalne i biokemijske značajke u ispitanica.....	31
5.2. Razine adiponektina, grelina, leptina i rezistina u žena s PCOS i zdravih ispitanica.....	35

5.3. Vrijednosti leptina, adiponektina, grelina i rezistina u različitim podtipova PCOS.....	38
5.4. Povezanost koncentracija leptina, adiponektina, ghrelina i rezistina s debljinom, vrijednostima androgena, inzulinskom rezistencijom te ostalim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika .....	47
6.0. RASPRAVA .....	57
6.1. Adiponektin i PCOS .....	57
6.2. Leptin i PCOS .....	61
6.3. Rezistin i PCOS .....	63
6.4. Grelin i PCOS .....	66
7.0. ZAKLJUČAK .....	70
8.0. SAŽETAK .....	71
9.0. SUMMARY .....	72
10.0. LITERATURA .....	74
11.0. ŽIVOTOPIS .....	83

## 1.0. UVOD

Sindrom policističnih jajnika (PCOS) vrlo je složen endokrinološki, reprodukcijski, opstetrički i metabolički poremećaj nedovoljno poznate etiologije i patogeneze. Manifestira se čitavim nizom kliničkih značajki i simptoma od kojih su tri najčešća: 1. poremećaj ovulacije 2. povećano stvaranje androgena i 3. ultrazvukom utvrđen policističan izgled jajnika (1). PCOS je često udružen s debljinom, poremećajem u lučenju gonadotropina i inzulinskom rezistencijom. Iako se ovi se parametri ne smatraju ključnim za postavljanje dijagnoze, oni utječu na klinički fenotip i reprodukcijske i metaboličke rizike.

U nedostatku jasnog uzročnog čimbenika i mehanizma nastanka, ovaj se sindrom definira na osnovu dogovorenih kriterija. U svijetu se koriste tri različita kriterija što otežava interpretaciju objavljenih istraživanja.

PCOS se smatra jednom od najčešćih bolesti u ljudi i svakako najčešćom endokrinopatijom u žena te zajedno s menoragijom, najčešćim ginekološkim poremećajem.

PCOS nije značajan samo zbog svoje visoke učestalosti nego i zbog brojnih zdravstvenih rizika koje imaju žene oboljele od ovog sindroma. Čitav niz godina zanimanje za PCOS bilo je povezano s kožnim i reprodukcijским manifestacijama ovog poremećaja. Ovaj je sindrom, međutim, postao izuzetno zanimljiv svjetskoj medicinskoj javnosti 80-tih godina prošlog stoljeća kada je ustanovljeno da žene s PCOS imaju veći rizik nastanka abdominalne debljine, inzulinske rezistencije, intolerancije glukoze, dijabetesa tipa 2, dislipidemije i hipertenzije, ukratko - metaboličkog sindroma. Češća je poremećena vaskularna i endotelna funkcija što zajedno s prethodno navedenim čimbenicima utječe na povišen rizik nastanka kardiovaskularnih bolesti u žena s PCOS (2).

Dokazano je da promijenjena ekspresija hormona masnog tkiva - adipokina prethodi i ima važnu ulogu u nastanku dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti (3,4). Sve je više studija koje govore u prilog da je lučenje adipokina promijenjeno u bolesnica s PCOS. Promjene u lučenju adipokina u žena s PCOS mogle bi biti važan pretskazatelj kliničkog tijeka bolesti. Rana identifikacija bolesnica koje imaju povišen rizik nastanka metaboličkih i kardiovaskularnih komplikacija omogućila bi primjenu mjera prevencije poput promjena u načinu života, ishrane te pravovremeni početak ciljanog liječenja.

## 1.1. Definicija PCOS

U nedostatku jasnog uzročnog čimbenika kao i patogenetskog mehanizma ovaj se sindrom definira na osnovu kliničkih simptoma. Pri tom treba imati na umu da je PCOS sindrom, što znači da označava zbir znakova i simptoma koji karakteriziraju poremećaj za čije postavljanje dijagnoze ne postoji jedinstveni dijagnostički test. Iako se ovaj sindrom klinički manifestira na vrlo heterogen način, dominiraju tri simptoma: povećano stvaranje androgena, poremećaj ovulacije i ultrazvučni nalaz policističnih jajnika. Različite kombinacije navedenih znakova koriste se u svrhu postavljanja specifičnih dijagnostičkih kriterija.

Budući je PCOS funkcionalni poremećaj nejasne etiologije, njegova se dijagnoza postavlja na temelju isključenja bolesti koje se slično manifestiraju.

## 1.2. Dijagnostički kriteriji PCOS

Sindrom su izvorno opisali Stein i Leventhal 1935. godine (5) kao združenu pojavnost amenoreje i policističnih jajnika što ponekad može biti praćeno hirsutizmom i pretilošću. Posljednjih 70-tak godina predloženo je više različitih dijagnostičkih kriterija, no do danas ne postoji niti jedan univerzalno prihvaćen. Nepostojanje globalno prihvaćenog dijagnostičkog kriterija otežava interpretaciju učinjenih studija i bitno otežava istraživanje etiologije, patogeneze, uspjeha liječenja i kasnih posljedica ovog sindroma. U svijetu se danas koriste tri kriterija. U Republici Hrvatskoj koristi se Rotterdarmski kriterij.

**NIH kriterij** – U američkoj se literaturi uvelike koristi definicija Američkog nacionalnog instituta za zdravlje (US National Institutes of Health – NIH) iz 1990. godine. Prema ovom kriteriju dijagnoza PCOS postavlja se na temelju nazočnosti: 1. kliničkih znakova hiperandrogenizma i/ili biokemijski potvrđene hiperandrogenemije; 2. kronične anovulacije; 3. isključenja bolesti koje se slično manifestiraju (6). Ultrazvučni nalaz policističnih jajnika pritom, može biti sugestivan za ovaj sindrom, no njegova nazočnost nije nužna za postavljanje dijagnoze. Ovim se kriterijem dokazuju dva osnovna fenotipa PCOS: 1. žene s kliničkim i/ili biokemijskim hiperandrogenizmom, oligo/anovulacijama i policističnim izgledom jajnika nađenim ultrazvukom i 2. žene s kliničkim i/ili biokemijskim



hiperandrogenizmom, oligo-anovulacijama, a bez ultrazvučnog prikaza policističnog izgleda jajnika.

**Rotterdamski kriterij** – Europsko društvo za humanu reprodukciju i embriologiju (European Society for Human reproduction and Embriology – ESHRE) i Američko društvo za reprodukciju medicinu (American Society for Reproductive Medicine – ASRM) u Rotterdamu 2003. godine objavljuju konsenzus prema kojem se PCOS definira nazočnošću dva od tri navedena parametra: 1. oligo – i/ili anovulacija; 2. klinički i/ili biokemijski znaci hiperandrogenizma; 3. policistični izgled jajnika dokazan ultrazvukom, a nakon isključenja bolesti koje se slično manifestiraju (7). Ovaj dijagnostički kriterij ne isključuje NIH kriterij, već ga dodatno proširuje. Rotterdamski kriterij naime uključuje i dva dodatna fenotipa: 1. žene s ultrazvučno dokazanim policističnim jajnicima te prisutnim kliničkim i/ili biokemijskim znacima hiperandrogenizma, a bez prisutnih znakova poremećaja ovulacije; 2. žene s ultrazvučno dokazanim policističnim jajnicima i poremećajem ovulacije, a bez prisutnih kliničkih ili biokemijskih znakova hiperandrogenizma.

**AES kriteriji** – Organizacija za stanja povezana s povećanim stvaranjem androgena i sindrom policističnih jajnika (Androgen Excess and PCOS Society – AES-PCOS) objavila je treći konsenzus o dijagnostičkim kriterijima PCOS (8). Prema ovom konsenzusu dijagnoza PCOS se postavlja na osnovu prisustva tri znaka: 1. kliničkog i/ili biokemijskog dokaza pretjeranog stvaranja androgena; 2. disfunkcije jajnika (oligo-anovulacije i/ili ultrazvukom dokazanih policističnih jajnika) 3. isključenja bolesti koje se slično manifestiraju. Policistični izgled jajnika u ovom kriteriju predstavljen je kao alternativa oligo-anovulaciji, a ne zaseban parametar kao u Rotterdamskom kriteriju. Prema ovom kriteriju hiperandrogenizam je *conditio sine qua non* (od lat. „uvjet bez kojeg ne može“) za postavljanje dijagnoze PCOS, stoga je isključen fenotip s oligo/anovulacijama, policističnim izgledom jajnika, a bez hiperandrogenizma.

Tri dijagnostička kriterija PCOS navedena su u tablici 1.

**Tablica 1.** Kriteriji za postavljanje dijagnoze PCOS

<b>NIH (6)</b>	<b>ESHRE/ASRM (7)</b>	<b>AES-PCOS (8)</b>
Oligoovulacija i klinički i/ili biokemijski hiperandrogenizam nakon isključenja sličnih bolesti	Dva od tri parametra: oligo/anovulacija ili klinički i/ili biokemijski hiperandrogenizam ili policističan izgled jajnika nakon isključenja sličnih bolesti	Hiperandrogenizam i ovarijska disfunkcija (oligo/anovulacija) i/ili policističan izgled jajnika nakon isključenja sličnih bolesti

Postoje prednosti i nedostaci svih navedenih dijagnostičkih kriterija. NIH kriteriji svakako predstavljaju srž PCOS. Ovaj kriterij te u manjoj mjeri AES kriterij definira žene koje imaju povišen rizik inzulinske rezistencije i kardiovaskularnih bolesti u odnosu na opću populaciju. Iako je jasno da dva nova fenotipa definirana Rotterdamskim kriterijem imaju manji rizik nastanka metaboličkih i kardiovaskularnih komplikacija u odnosu na klasične fenotipove, nije jasno razlikuju li se oni glede metaboličkih rizika od zdrave populacije (7).

Prikaz različitih kliničkih fenotipova u ovisnosti o dijagnostičkim kriterijima dan je u tablici 2.

**Tablica 2.** Kombinacije različitih kliničkih parametara koji prikazuju različite fenotipove PCOS

<b>Značajke</b>	<b>fenotipovi</b>			
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Hiperandrogenizam (klinički i/ili biokemijski)	+	+	+	-
Oligo/anovulacija	+	+	-	+
Policistični izgled jajnika na ultrazvuku	+	-	+	+

<b>NIH kriterij</b>	☆	☆		
<b>ESHRE/ASRM kriterij</b>	☆	☆	☆	☆
<b>AES kriterij</b>	☆	☆	☆	

Uključivanje bolesnica u studije samo na osnovu dijagnostičkih kriterija vjerojatno nije primjereno ukoliko se prati određeni klinički ishod žena s PCOS. Primjerice istraživanja koja se fokusiraju na trudnoću kao ishod, trebala bi istraživati fenotipove koji se razlikuju u postojanju, odnosno odsustvu ovulacije. S druge strane, studije koji prate promjene u stupnju hirsutizma trebale bi se fokusirati na fenotipove koji se razlikuju po nazočnosti odnosno izočnosti hirsutizma. Obzirom da je hiperandrogenemija od sva tri dijagnostička parametra najsnažniji modulator metaboličkih rizika u našu smo studiju uključili isključivo fenotipove koji su se razlikovali u nazočnosti, odnosno izočnosti hiperandrogenemije.

### **1.3. Incidencija PCOS**

Učestalost PCOS ovisi o korištenom dijagnostičkom kriteriju. Prema NIH kriteriju učestalost ovog sindroma iznosi između 6,5-8%, što znači da od PCOS boluje svaka 13. do 15. žena, odnosno da 105 milijuna žena u svijetu ima PCOS (9). Učestalost je sindroma policističnih jajnika 15- 22% ako poštujemo Rotterdamski kriterij za postavljanje dijagnoze (10). Dakle, prema ovom kriteriju gotovo svaka peta žena reproduktivne dobi boluje od PCOS. Ovaj se sindrom češće dijagnosticira u adolescentnoj dobi. Poštujući Rotterdamski kriterij, PCOS ima 25% adolescentica. Starenjem, paralelno s fiziološkim smanjenjem ovarijske rezerve, odnosno broja antralnih folikula, ublažava se hiperandrogenemija i češće su ovulacije. U razdoblju tranzicije incidencija PCOS je 15%, a u perimenopauzi 10% (11). Učestalost PCOS je povišena kod osoba s povećanim indeksom tjelesne mase (ITM), inzulinskom rezistencijom (IR), dijabetesom tipa 1 ili 2, anovulacijskom neplodnosti, prijevremenom adrenarhom, gestacijskim dijabetesom u anamnezi te onih, kod kojih bliski član obitelji boluje od PCOS.

### **1.4. Dijagnoza i klinička slika PCOS**

Postavljanje dijagnoze PCOS temelji se na dva osnovna koraka: 1. odrediti postojanje znakova koji ukazuju na PCOS i 2. isključiti bolesti koje se također manifestiraju povišenim stvaranjem androgena i oligo-anovulacijama. Dijagnostički postupnik ovisiti će o kriterijima kojima se koristimo za postavljanje dijagnoze. U Republici Hrvatskoj koristimo se Rotterdamskim kriterijem (u tablici 1).

### 1.4.1. Oligo-anovulacija

Oligo-anovulacije se obično klinički manifestiraju u obliku oligomenoreje, a rjeđe kao amenoreja (20-30%). Redovit menstrucijski ciklus nije garancija postojanja ovulacije. U oko 20-30% žena s PCOS i eumenorejom te niskim vrijednostima progesterona određenim između 22. i 24. dana ciklusa nađena je subklinička oligo/anovulacija. U žena s kroničnom anovulacijom nužno je određivanje vrijednosti prolaktina (PRL) i luteinizirajućeg hormona (LH) u serumu, sa svrhom isključenja bolesti hipotalamusa i hipofize (vrijednosti PRL između 20-30 µg/L često se nalaze kod PCOS zbog specifične hiperaktivacije hipofize, vrijednosti iznad te razine povezane su s hiperprolaktinemijom; vrijednosti LH < 2 IU/L povezane su s gonadotropnom deficijencijom). Kronična anovulacija i ultrazvukom utvrđen policističan izgled jajnika mogu biti nazočni i kod nekih oblika funkcionalne hipotalamičke amenoreje uzrokovane nedostatnim unosom kalorija ili pretjeranom tjelesnom aktivnosti. Za takve su promjene karakteristične niske vrijednosti estrogena u plazmi te niske ili normalne vrijednosti gonadotropina. Poremećaj ovulacije razlogom je smanjene plodnosti bolesnica s PCOS, a dugotrajno, neoponirano djelovanje estrogena povisuje rizik za menoragije, disfunkcijska krvarenja, hiperplaziju i karcinom endometrija.

### 1.4.2. Klinički hiperandrogenizam i/ili biokemijska hiperandrogenemija

**Klinički hiperandrogenizam** se manifestira poremećajem pilosebaceozne jedinice u vidu hirsutizma, rjeđe akni (uglavnom kod mladih žena) i androgene alopecije (uglavnom kod starijih žena). Hirsutizam se definira povećanim rastom terminalnih dlaka prema muškom načinu distribucije. Čak 85-95% žena s hirsutizmom imati će PCOS. Ostali, rijetki uzroci hirsutizma su: idiopatski hirsutizam, kongenitalna adrenalna hiperplazija, korištenje nekih lijekova, hipertekozna, teža inzulinska rezistencija, hiperprolaktinemija, tumori jajnika (Leydig-stanični, granulosa-teka stanični, hilus-stanični tumor) te tumori nadbubrežne žlijezde. Težina hirsutizma procjenjuje se modificiranom Ferriman-Gallweyevom ljestvicom, jednostavnom za uporabu, koja bodovima od 1-4 ocjenjuje izraženost hirsutizma na devet određenih mjesta (12). Ukoliko je zbroj bodova u neke žene veći od 8, govorimo o hirsutizmu. Iako se hirsutizam smatra primarnim kliničkim indikatorom hiperandrogenizma postoje ograničenja njegove kliničke primjene: 1. ocjena hirsutizma relativno je subjektivna metoda; 2. pojačanu dlakavost bolesnice uobičajeno odstranjuju prije kliničkog pregleda, što

otežava evaluaciju; 3. neke žene nikada ne razviju kliničke znakove hiperandrogenizma, unatoč prisutnoj hiperandrogenemiji u cirkulaciji, zbog genetski uvjetovanog smanjenog broja i/ili osjetljivosti pilosebaceozne jedinice na androgene. Upravo zbog navedenog bolesnice s hirsutizmom, a bez hiperandrogenemije nismo uključili u našu studiju.

Još uvijek ne postoji jedinstven stav o aknama i androgenoj alopeciji kao jasnim kliničkim znacima hiperandrogenizma u žena s PCOS. Naime, brojne studije ukazuju da se ovi simptomi javljaju s jednakom učestalošću u žena s PCOS kao i u općoj populaciji. Stoga se danas akne i alopecija smatraju nedovoljno pouzdanim znacima hiperandrogenizma, poglavito ukoliko su one jedini klinički znak. Ipak, svakoj ženi s aknama koje ne nestaju prestankom puberteta, odnosno postpubertalno nastalim aknama treba odrediti androgene u cirkulaciji, obzirom da 60-80% žena s aknama koje nemaju hirsutizam ima povišene androgene u cirkulaciji.

**Biokemijska hiperandrogenemija** se obično dijagnosticira mjerenjem ukupnog testosterona u serumu (T), proteina koji veže spolne hormone (engl. *sex hormone binding protein* – SHBG), odnosno izračunom frakcije slobodnog testosterona (engl. *free androgen index* – FAI). Koncentracija drugih androgena u serumu poput androstendiona ili adrenalnog dihidroepiandrosteron sulfata (DHEAS), obično je povišena u žena s PCOS. Izolirano povišenje ovih androgena prisutno je u manje od 10% žena s PCOS, stoga se smatra da rutinsko određivanje ovih hormona u serumu nije nužno. Definiranje pretjeranog stvaranja androgena mjerenjem njihovih vrijednosti u serumu ima nekoliko ograničenja koja se povezuju s nepouzdanosti, nepoznavanjem jasnih granica normalnih vrijednosti u žena i velikom varijabilnošću laboratorijskih metoda koje se koriste (13).

### 1.4.3. Ultrazvučni nalaz policističnih jajnika

Ultrazvučni dijagnostički kriteriji za policistične jajnike su: 1. 12 ili više folikula (2-9 mm promjera) u jajniku; 2. volumen jajnika veći od 10 ml, 3. za postavljanje dijagnoze dostatno je prisustvo navedenih promjena samo u jednom jajniku. Ultrazvučni nalazi nisu sigurni u prvim ginekološkim godinama, peripubertetskom hiperandrogenizmu i adolescenciji. U adolescentica je uputno postaviti dijagnozu PCOS mjerenjem volumena jajnika, obzirom da je mjerenje broja folikula manje pouzdano kada koristimo transabdominalnu sondu, poglavito u djevojčica s pretjeranom tjelesnom težinom. Od svih žena s UZV nalazom policističnih jajnika 90% ima PCOS (14).

#### 1.4.4. Isključenje bolesti koje se slično manifestiraju

Pri postavljanju dijagnoze PCOS diferencijalno dijagnostički treba isključiti slijedeće bolesti i stanja: bolesti štitnjače, hiperprolaktinemiju, gonadotropinom, neklasičnu kongenitalnu adrenalnu hiperplaziju, Cushingov sindrom, virilizirajuće tumore, hipotalamičke amenoreje, akromegaliju, glukokortikoidnu rezistenciju, inzulinsku rezistenciju, hipertekozu te korištenje nekih lijekova. Određivanjem gonadotropina – folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteotropnog hormona (LH) isključuju se hipotalamično-hipofizni razlozi anovulacija (normalan raspon koji odgovara za ranu folikulinsku fazu iznosi: FSH 2-10 IU/L, LH 2-10 IU/L). Mjerenjem prolaktina (PRL) isključuje se hiperprolaktinemija, a tireotropin stimulirajućeg hormona (TSH) poremećaj rada štitne žlijezde. Određivanjem 17-hiproksiprogesterona (17-OHP) isključuje se neklasična kongenitalna adrenalna hiperplazija (NKAH). Dobivene vrijednosti 17-OHP u ranoj folikulinskoj fazi < 3 nmol/L isključuju NKAH. Određivanje kortizola u 24 satnom urinu u svrhu isključenja Cushingove bolesti vrši se samo kada se postavi klinička sumnja na ovu bolest. Teža inzulinska rezistencija obično je karakterizirana kožnim promjenama u vidu *acanthosis nigricans*. Za dokazivanje inzulinske rezistencije obično se koristimo metodom računanja HOMA indexa (engl. *homeostasis model assessment*) prema formuli:  $\frac{GUK (mmol/L) \times inzulini (\mu IU/mg)}{22,5}$ , pri čemu vrijednost >2,5 ukazuje na inzulinsku rezistenciju.

#### 1.5. Etiologija PCOS

Uzrok nastanka PCOS još je nepoznanica, no učestala pojavnost ovog sindroma u pojedinim obiteljima ukazuje na njegovu genetsku uvjetovanost. Naime, poznato je da 35% majki i 40% sestara bolesnica s PCOS ima ovaj poremećaj. Dodatno još 24% sestara ima hiperandrogenemiju. Braća bolesnica s PCOS imaju veću učestalost dislipidemije, inzulinske rezistencije i hiperandrogenemije (15). Dokazano je da oko 70% članova obitelji žena s PCOS ima hiperinzulinemiju, još jednu karakteristiku PCOS (16).

Obzirom na vrlo heterogenu kliničku i biokemijsku sliku kojom se ovaj sindrom manifestira, teško je vjerovati da se radi o poremećaju na razini samo jednog gena. PCOS se smatra vrlo kompleksnim genetskim poremećajem poput dijabetesa tipa 2, shizofrenije ili astme gdje zapravo čitav niz predisponirajućih gena potaknutih nekim čimbenicima okoliša,

poglavito nutritivnih ili nekim intrauterinim čimbenicima dovode do nastanka bolesti (17).

Sve je više dokaza da disregulacija sinteze androgena u teka stanicama jajnika ima ključnu ulogu u patogenezi PCOS. Dokazano je kako teka stanice policističnih jajnika zadržavaju povećanu aktivnost enzima odgovornih za stvaranje androgena pri serijskom rasadivanju kulture stanica, što znači da je svojstvo povećanog stvaranja androgena intrinzično, odnosno nije uvjetovano vanjskim stimulusima, poput povećane stimulacije s LH odnosno hiperinzulinemijom. Taj nalaz podupire tezu da je programirani hiperandrogenizam teka stanica uvjetovan ili genetskim čimbenicima ili je uzrokovan epigenetskim utjecajima. Čini se da do disregulacije sinteze androgena, odnosno programiranja fenotipskih karakteristika PCOS dolazi već tijekom intrauterinog života fetusa. U studijama na primatima dokazano je da izlaganje povišenim vrijednostima androgena u trudnoći dovodi do fenotipskih značajki tipičnih za PCOS (18). Ovisno o tjednima trudnoće u kojima se fetus izlaže androgenima nastaju u kasnijem životu različiti fenotipovi PCOS (19). Ova zapažanja dovela su do pretpostavke da hiperandrogenizam majke, kakav se vidi kod trudnica s PCOS može aktivirati fetalnu nadbubrežnu žlijezdu, ali i jajnike i time dovesti do nastanka PCOS.

Prema dosadašnjim saznanjima aromataza posteljice i visok SHBG u serumu tijekom trudnoće štiti fetus od povišenih vrijednosti androgena majke. No u djece majki s PCOS, odmah postpartalno nađene su povišene vrijednosti AMH koji govori u prilog povišene intrauterine androgene aktivnosti fetalnih jajnika (20). Potencijalni izvor gestacijskog hiperandrogenizma odgovornog za programiranje PCOS u ljudi nije razjašnjen. Majčin i/ili fetalni hiperandrogenizam, povezan sa smanjenom aktivnošću SHBG i aromataze u placenti može biti jedan od genetski uvjetovanih mehanizama.

## 1.6. Patogeneza PCOS

Patogenetski mehanizam nastanka PCOS smatra se jednim od najkompliciranijih patogenetskih mehanizama u medicini općenito. U tom endokrinološko-metaboličkom poremećaju isprepliću se abnormalnosti više sustava. Središnji je poremećaj u jajniku, ali na njega utječe abnormalna neurosekrecija, hiperinzulinemija i debljina.

### 1.6.1. Poremećaj rasta i razvoja folikula

Broj primordijalnih folikula (pričuvni pool) kod žena s PCOS jednak je kao i kod zdravih žena. Nasuprotno tome policistični jajnici sadrže tri puta veći broj antralnih folikula (2-5 mm) od normalnih jajnika. Također se zna da folikuli policističnih jajnika prestaju rasti kada dosegnu veličinu od 4-7 mm. Stoga se pretpostavlja da genetski uvjetovan ovarijski hiperandrogenizam dovodi do dva osnovna poremećaja na razini folikula: 1. povećanog rasta velikog broja malih folikula, 2. zastoja u rastu i razvoju folikula, odnosno aresta folikula. Poznato je da androgeni dovode do proliferacije teka i granuloza stanica te da je ovaj učinak poglavito vidljiv na malim folikulima bogatim androgenim receptorima. Ovaj trofički učinak androgena na teka i granuloza stanice očituje se preko amplifikacije FSH, pojačavanja djelovanja inzulinu sličnog čimbenika rasta I (engl. *insulin growth factor* - IGF I) i ekspresije gena za IGF I receptor. Čini se da disregulacija teka stanica nije jedini krivac za intraovarijski hiperandrogenizam. Inhibin A, čiji se prekursorski protein pro- $\alpha$ C (engl.  *$\alpha$ -inhibin precursor protein*) pojačano stvara kod žena s PCOS, povećava LH stimulirano stvaranje androgena. Osim toga u granuloza stanicama jajnika pojačano se stvara anti Müllerov hormon (AMH) koji dodatno povećava LH i cAMP-om uzrokovanu indukciju ekspresije CYP 17. Čini se da i neki čimbenici oocite mogu imati ulogu u regulaciji aktivnosti teka stanica. Čimbenik diferencijacije rasta 9 (engl. *growth differentiation factor-9*, GDF-9) koji se luči iz oocite blokira bazalno i LH uzrokovano lučenje androgena. Vrijednosti GDF-9 kod žena s PCOS su snižene. Androgenima uvjetovan arest folikula nije u potpunosti objašnjen. Pretpostavlja se da do folikularnog aresta dolazi zbog pretjeranog stvaranja lokalnih inhibitornih čimbenika djelovanja FSH od kojih je AMH glavni kandidat. Dva do tri puta više vrijednosti AMH koje se luče iz velikog broja malih folikula policističnih jajnika inhibiraju učinak FSH na aktivnost aromataze i time dovode do zastoja u rastu i razvoju folikula. Čini se da hiperinzulinemija



koja dovodi do prijevremene diferencijacije granulosa stanica, odnosno pojave LH receptora, kao i neke abnormalnosti oocite poput smanjene ekspresije GDF-9 dodatno doprinose arestu folikula. S obzirom da su folikuli zaustavljeni u rastu izostaje selekcija dominantnog folikula, ovulacija i stvaranje progesterona (21).

### **1.6.2. Neuroendokrinološki poremećaji**

Niske vrijednosti progesterona dovode do povišenja pulzabilnosti hormona koji oslobađa gonadotropine (engl. *gonadotropin releasing hormone* - GnRH) što povisuje razinu, frekvenciju i amplitudu LH. Povišena razina androgena također povisuje pulzabilnost GnRH te smanjuje osjetljivost hipotalamusa na progesteron. Trajno povišenje pulzabilnosti GnRH za posljedicu ima podizanje razine LH, što je vidljivo u 70% žena s PCOS. Povišene vrijednosti LH dodatno stimuliraju funkciju enzima pod nadzorom P450c17 $\alpha$  u teka stanicama, odnosno proizvodnju androgena. Povišene su vrijednosti LH odgovorne i za nastanak prijevremene luteinizacije što se dovodi u vezu i s povišenim rizikom nastanka ranih spontanih pobačaja u žena s PCOS. Zbog povišenih inhibina B i slobodnih estrogena u cirkulaciji te lokalnih parakrinih učinaka androgena, AMH, folistatina, GDF-9, proteina koji veže inzulinu sličan čimbenik rasta (engl. *insulin growth factor binding protein – 4*, IGFBP-4), transformirajućeg čimbenika rasta (engl. *transforming growth factor-TGF*) te epidermalnog čimbenika rasta (engl. *epidermal growth factor  $\alpha$  -  $\alpha$ /EGF*) smanjena je aktivnost FSH, što za posljedicu ima promijenjen FSH/LH odnos. Snižena aktivnost FSH bitno doprinosi anovulaciji (22).

### **1.6.3. Utjecaj inzulina i inzulinske rezistencije**

U patofiziološki mehanizam nastanka PCOS upliće se inzulin i inzulinska rezistencija (IR). Kao što je prethodno navedeno, gotovo 80% žena s PCOS i pretjeranom tjelesnom težinom i oko 30-40% žena s PCOS i normalnom tjelesnom težinom ima inzulinsku rezistenciju. Intoleranciju glukoze ima oko 40% žena s PCOS (23). Učestalost intolerancije glukoze nešto je niža u europskoj populaciji normalne tjelesne težine (24). Mehanizam nastanka inzulinske rezistencije u žena s PCOS nije u potpunosti objašnjen. Debljina sama po sebi (iako uvijek uzrokuje određen stupanj inzulinske rezistencije) nije dostatna za objašnjenje IR obzirom da i mršave žene s PCOS mogu imati inzulinsku rezistenciju, a sve

debele žene ne razvijaju PCOS. Hiperandrogenemijom se također ne može objasniti inzulinska rezistencija kod PCOS budući da davanje antiandrogenih lijekova, kao ni kompletna blokada ovarijske steroidogeneze dugotrajnom primjenom GnRH analoga, ne dovodi do potpunog smanjenja inzulinske rezistencije (25). Danas se smatra da inzulinska rezistencija u žena s PCOS nastaje zbog postreceptorskog poremećaja u metabolizmu inzulina na razini perifernih tkiva (26). Naime, studije su pokazale da u oko 50% žena s PCOS adipociti i fibroblasti pokazuju povišenu serinsku fosforilaciju, a sniženu tirozinsku fosforilaciju nakon vezanja inzulina za svoj receptor. Povišena serinska fosforilacija dovodi do zaustavljanja signalnog puta inzulina što za posljedicu ima blago povišenje bazalne aktivnosti inzulina i smanjen odgovor stanice na inzulin. Paradoksalno, serinska fosforilacija  $\beta$  lanca inzulinskog receptora dovodi do aktivacije adrenalnog i ovarijskog P450c17 enzima što za posljedicu ima povišenje aktivnosti 17,20-laze i produkcije androgena. Jednostavno rečeno, serinska fosforilacija umjesto tirozinske fosforilacije predstavlja mehanizam isključenja transporta glukoze, odnosno mehanizam uključenja hiperprodukcije androgena. Uzrok serinske fosforilacije nije poznat, no pretpostavlja se da je genetski uvjetovan (26). Brojne su disregulacijske posljedice hiperinzulinemije. Na nivou teka stanica inzulini stimulira bazalnu i LH induciranu aktivnost P450c17 što za posljedicu ima usmjeravanje steroidogeneze prema biosintezi androgena. Inzulini stimulira proliferaciju teka stanica i smanjuje njihovu apoptozu. Inzulini također povećava ekspresiju receptora za lipoprotein visoke gustoće (engl. *high density lipoprotein* - HDL) čime se povećava unos kolesterola potrebnog za biosintezu androgena. Na granulozama stanicama hiperinzulinemija dovodi do smanjenja aktivnosti aromataze, inhibira sintezu IGFBP-1, što za posljedicu ima povišenje razine slobodnog IGF-1 i povećanu produkciju androgena. Ukratko hiperinzulinemija mijenjanjem omjera između progesterona i estradiola utječe na selekciju dominantnog folikula te promocijom proliferacije stanica smanjuje normalnu folikularnu atreziju. Ti učinci mogu dovesti do anovulacije. Na nivou hipotalamusa i hipofize hiperinzulinemija potiče bazalnu i GnRH stimuliranu ekspresiju i sekreciju LH i FSH. Stoga, povišene vrijednosti inzulina potiču lučenje LH što dodatno doprinosi hiperandrogenemiji. Na razini jetre hiperinzulinemija dovodi do pada produkcije SHBG i IGFBP-1 čime se dodatno pogoršava hiperandrogenemija. Dakle hiperinzulinemijom bi se mogli objasniti svi klinički i laboratorijski znaci PCOS. No činjenica je da nisu sve žene s PCOS rezistentne na inzulini, odnosno nemaju posljedičnu hiperinzulinemiju, što ukazuje da ovi poremećaji ipak nisu neophodni za nastanak PCOS u velikog broja žena. Međutim, novije su studije pokazale da primjena diazoksida čak i kod mršavih žena s PCOS kod kojih su nađene normalne vrijednosti

inzulina, dovodi do smanjenja slobodnog testosterona i porasta SHBG u cirkulaciji. Takav učinak nije primijećen kod zdravih žena. Taj rezultat ukazuje da inzulin doprinosi nastanku hiperandrogenemije čak i u žena koje imaju normalnu osjetljivost na inzulin kao i njegove normalne vrijednosti (27). *In vitro* molekularne studije pokazuju da su i fiziološke koncentracije inzulina dovoljne za stimulaciju pojačane sinteze androgena u teka stanica PCOS, dok su suprafiziološke vrijednosti nužne da bi se isti učinak postigao u normalnim stanicama. Dakle, očito je da su teka stanice PCOS hiperosjetljive na djelovanje inzulina čak ukoliko se on luči i u fiziološkim koncentracijama. Ta hiperosjetljivost na inzulin vjerojatno je genetski uvjetovana (17).

#### **1.6.4. Poremećaj masnog tkiva i uloga adipokina**

Debljina ima značajan utjecaj na kliničke, hormonske i metaboličke značajke PCOS. Odavno je poznato da je čak i umjerena debljina (BMI >27 kg/m<sup>2</sup>) povezana s većom učestalosti anovulacija, spontanim pobačajima i komplikacijama u kasnijoj trudnoći u smislu gestacijskog dijabetesa i hipertenzije. Oko 30–70% žena s PCOS (ovisno o zemlji u kojoj se istraživanje vrši) ima povećanu tjelesnu težinu (BMI ≥25 kg/m<sup>2</sup>), što je značajno veća učestalost od one u općoj populaciji. Prevladava androidna pretilost i povećana količina visceralne masti. Čak i kod žena s PCOS i normalnom tjelesnom težinom nađena je veća akumulacija visceralnog masnog tkiva u odnosu na opću populaciju (28). Abdominalna debljina povezana je s nastankom inzulinske rezistencije, povećanim rizikom nastanka dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti.

Čini se da je za nastanak androidne akumulacije masti primarno odgovoran utjecaj androgena na adipocite. U pokusima na primatima dokazano je kako davanje androgena majkama u ranoj trudnoj trudnoći dovodi do nakupljanja abdominalne, poglavito visceralne masti u kasnijem životu. Također rana androgenizacija fetusa povisuje vrijednosti slobodnih masnih kiselina u plazmi te dovodi do inzulinske rezistencije (18,19). Androgeni inhibiraju diferencijaciju adipocita i moduliraju lipogenezu i lipolizu. Testosteron dovodi do smanjenog inzulinom-stimuliranog unosa glukoze, što je učinak selektivan za inzulinsku signalizaciju prijenosa glukoze. Posljedično, hiperandrogenizam može dovesti do neispravne inzulinske signalizacije u žena s PCOS-om u kojih hiperinzulinemija povećava proizvodnju androgena, što zauzvrat potiče nastanak inzulinske rezistencije u perifernim tkivima (29).

Abdominalna je debljina povezana i s promijenjenom sekrecijom nekoliko peptidnih hormona koji se stvaraju u adipocitima i nazivaju adipokinima. Adipokini imaju ključnu ulogu u homeostazi tijela uključujući regulaciju unosa hrane, potrošnju energije, djelovanje inzulina, metabolizam glukoze i lipida, angiogenezu, regulaciju krvnog tlaka i koagulacijske mehanizme. Razumijevanje biološkog značaja i djelovanja adipokina kod bolesnica s PCOS još je uvijek u začetku. U novije se vrijeme pretpostavlja da kod žena s PCOS postoji začarani krug koji se sastoji od povećanog stvaranja androgena u jajnicima koji promoviraju abdominalnu akumulaciju masti i disfunkciju visceralnog masnog tkiva što dovodi do induciranja poremećaja u lučenju adipokina, a to za posljedicu ima nastanak inzulinske rezistencije s kompenzatornom hiperizulinemijom koja potom ponovno pojačava stvaranje androgena u jajnicima i nadbubrežnoj žlijezdi (29). Međutim, studije o poremećenom lučenju adipokina kod bolesnica s PCOS, neovisno o indeksu tjelesne mase (ITM) daju kontroverzne i nekonzistentne rezultate. Djelomično se to može objasniti heterogenom manifestacijom bolesti koja se prikazuje čitavim nizom kliničkih i biokemijskih karakteristika, odnosno brojnim podtipovima PCOS. Stoga je zanimljivo istražiti razlikuju li se vrijednosti adipokina kod bolesnica s različitim fenotipskim i biokemijskim karakteristikama PCOS.

Sve je više studija koje govore u prilog da adipokini mogu predstavljati zanimljivu poveznicu između hiperandrogenemije, centralne akumulacije masti i inzulinske rezistencije, hiperlipidemije, kronične inflamacije, odnosno karakterističnih metaboličkih poremećaja bolesnica s PCOS. Prema, u novije vrijeme objavljenim studijama, upravo promjene u lučenju adipokina prethode nastanku inzulinske rezistencije, kronične upale i ateroskleroze (3,4). Stoga bi promjene u lučenju adipokina kod žena s PCOS mogle predstavljati važan prediktor kliničkog tijeka bolesti uključujući i nastanak dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti. Identifikacijom žena koje imaju promjene u lučenju adipokina, kao putativnih markera kasnijih metaboličkih komplikacija, na vrijeme bi se moglo započeti s preventivnim strategijama u smislu promjena životnih navika i/ili korištenja lijekova koji smanjuju osjetljivost na inzulin.

#### **1.6.4.1. Leptin**

Leptin je protein koji se sastoji od 167 aminokiselina kodiran od strane *ob* gena (poznat kao *Lep* gen u ljudi). Luči se u adipocitima, ali i u želucu, placenti i dojčkama. Leptin se veže za dugi krak leptinskog receptora (Ob-Rb) u hipotalamusu i predstavlja signal mozgu

za regulaciju unosa hrane i potrošnju energije. Leptin utječe na smanjenje apetita i prirasta na težini smanjujući sintezu oreksigenih peptida i potičući sintezu anoreksigenih peptida u hipotalamusu. Poznato je da leptin, poput adiponektina, metformina, tiazolidinediona (TZD) ili vježbanja, aktivira adenozin monofosfat kinazu (AMPK), no njegova uloga u perifernim tkivima uključujući jetru, mišićno tkivo i masno tkivo samo je djelomice razjašnjena. Vrijednosti leptina u cirkulaciji stoje u korelaciji s ukupnim zalihama energije kao i s veličinom adipocita (30). Kod normalne pretilosti, davanje leptina dodatno će povisiti razinu endogenog leptina, međutim apetit i tjelesna težina se pritom neće očekivano smanjiti. Središnja rezistencija na leptin, koja nastaje zbog zasićenja prijenosa leptina kroz barijeru krv-mozak, mogući je uzrok ovih razočaravajućih kliničkih rezultata. S druge pak strane, nadomjesno davanje ovog adipokina vrijedan je način liječenja kad su debljina i/ili inzulinska rezistencija povezani sa sniženim razinama leptina u serumu (neki slučajevi lipodistrofije, genetski uzrokovana leptinska deficijencija i sl.). Hiperleptinemija je uobičajena oznaka osoba s pretjeranom tjelesnom težinom te se pretpostavlja da ona može predstavljati dodatni čimbenik uključen u inzulinsku rezistenciju i poremećaj lučenja ovarijskih hormona poglavito kod žena s PCOS (30).

Studije koje su istraživale vrijednosti leptina u bolesnica s PCOS dale su različite rezultate. Dok su neke studije pokazale da su vrijednosti leptina više u žena s PCOS u odnosu na kontrolnu skupinu iste tjelesne težine (31,32) druge su pokazale da razlike u vrijednostima leptina ne postoje između bolesnica s PCOS i normoovulatornih žena te da njegove vrijednosti stoje isključivo u korelaciji sa stupnjem debljine (33-35). Obzirom da su debljina, inzulinska rezistencija i hiperandrogenizam česta obilježja PCOS, ova je bolest dobar model za istraživanje utjecaja hiperinzulinemije i hiperandrogenizma na vrijednosti leptina.

U novije se vrijeme govori da leptin može imati ulogu u nastanku kardiovaskularnih bolesti. Leptin se povezuje s poremećajem u fibrinolizi, hipertenzijom i kalcifikacijom vaskularnih stanica (36). Studije su pokazale da su visoke vrijednosti leptina neovisan pokazatelj povišenog rizika nastanka kardiovaskularnih bolesti u bolesnica s PCOS (37).

#### **1.6.4.2. Adiponektin**

Adiponektin je protein koji se sastoji od 244 aminokiseline, a kodiran je od strane *apMI* gena. Primarno se luči u adipocitima. Adiponektin je jedan od rijetkih proteina koji se stvaraju u masnom tkivu čije su vrijednosti u cirkulaciji snižene kod pretilih osoba. Učinak adiponektina na metabolizam glukoze posredovan je putem dvaju receptora: AdipoR1 kojeg

nalazimo u svim tkivima i AdipoR2 koji se nalazi pretežito u jetri. Adiponektin povećava osjetljivost tkiva na inzulin smanjujući stvaranje glukoze i potičući djelovanje inzulina u jetri (38). Nadalje, adiponektin smanjuje glukoneogenezu u jetri reducirajući aktivnost enzima glukoneogeneze. Studije su pokazale da visoke vrijednosti adiponektina u cirkulaciji predstavljaju zaštitu od nastanka inzulinske rezistencije i dijabetesa tipa 2 te da su mutacije gena za adiponektin povezane s povišenim rizikom nastanka dijabetesa tipa 2. Osim dokazanog učinka na razinu glukoze u serumu, adiponektin snižava razine slobodnih masnih kiselina i triglicerida in vivo te potiče oksidaciju masnih kiselina u jetri putem smanjenja CD36 ekspresije (39). Koncentracija adiponektina u serumu stoji u obrnutoj korelaciji s inzulinskom rezistencijom (40-45) i vrijednostima kolesterola niske gustoće (*engl. low density lipoprotein* - LDL) u plazmi kao i triglicerida (46). Stoga, iako fiziološka uloga adiponektina nije u potpunosti razjašnjena, istraživanja ukazuju da bi ovaj adipokin trebao predstavljati matrix protein s potencijalnim antiaterogenim, antiinflamatornim učinkom te inzulin-senzitivnim svojstvima (47).

Studije o vrijednostima adiponektina kod bolesnica s PCOS dale su gotovo uniformne rezultate. Vrijednosti adiponektina su snižene kod žena s PCOS i ta je abnormalnost nazočna neovisno o stupnju debljine; nalazi se u bolesnica s PCOS normalne tjelesne težine kao i onih s povećanom tjelesnom težinom (48). U novijoj studiji Lagaly-a i suradnika (49) pokazano je kako adiponektin *in vitro* inhibira LH i progesteron-ovisnu produkciju androgena kao i djelovanje inzulina u teka stanicama. Ova aktivnost je bila združena sa smanjenjem sekrecije LH i redukcijom transkripcije Cyp11a1 i Cyp17a1 u teka stanicama što je rezultiralo smanjenjem teka stanične steroidogeneze. Adiponektin, međutim, nije utjecao na inzulin-induciranu proliferaciju teka stanica niti na funkciju granulosa stanica. Nadalje, nađeno je kako LH povisuje AdipoR2 mRNA u teka stanicama, ali ne i u granulosa stanicama. Stoga, adiponektin može izravno inducirati gensku ekspresiju u teka stanicama što ima potencijalnu važnost u patofiziologiji PCOS.

Iako je već ranije nađena obrnuta korelacija između vrijednosti adiponektina u serumu i vrijednosti slobodnog testosterona (48) na temelju tog saznanja ne može se zaključiti da postoji uzročno-posljedična veza između PCOS i hipoadiponektinemije. Stoga je važno istražiti vrijednosti adiponektina kod bolesnica s PCOS koje nemaju hiperandrogenizam/hiperandrogenemiju.

Epidemiološke studije ukazuju na niske vrijednosti adiponektina u bolesnica s debljinom, inzulinskom rezistencijom i koronarnom srčanom bolesti što nužno ne upućuje na uzročno-posljedičnu vezu između navedenih parametara; adiponektin može služiti samo kao

njihov marker. Novije studije ukazuju da snižavanje razine adiponektina prethodi inzulinskoj rezistenciji, što dodatno pridonosi teoriji da bi određivanjem adiponektina u bolesnica s PCOS mogli unaprijed predvidjeti koje će bolesnice razviti metaboličke komplikacije bolesti.

#### **1.6.4.3. Grelin**

Grelin je peptid koji se temeljno izlučuje u endokrinim žlijezdama želuca. Veće količine luče se još i u dvanaesniku, dok ga u znatno manjoj količini nalazimo u gušterači, hipofizi, bubrezima i posteljici. Stimulira izlučivanje hormona rasta, sudjeluje u regulaciji unosa hrane i metabolizmu energije. Ciljna su mu tkiva centri u hipotalamusu koji sudjeluju u regulaciji energije. Razina grelina raste tijekom razdoblja gladovanja ili u stanjima združenim s negativnom ravnotežom energije, kao što su izgladnjivanje i anoreksija. Nasuprot tome, razina grelina u serumu niska je nakon uzimanja hrane. Za razliku od nekih drugih oreksigenih peptidnih transmitera koji potiču hranjenje samo kad su primijenjeni izravno u središnji živčani sustav, grelin je prvi koji ima isti učinak kad je primijenjen periferno. Opažanje kako razina cirkulirajućeg grelina naglo raste prije jela i naglo pada nakon jela, navodi na zaključak kako ovaj hormon služi kao signal za početak hranjenja. Pritom grelin nema ulogu samo u regulaciji kratkoročnog hranjenja, već i dugoročno regulira tjelesnu težinu (50).

Vrijednosti grelina u serumu niže su kod osoba pretjerane tjelesne težine te onih s inzulinskom rezistencijom (51). Kod pretilih osoba, međutim, poremećena je uobičajena postprandijalna supresija grelina što sprječava smanjenje pohrane energije i podržava stanje adipoziteta.

Studije o vrijednostima grelina u serumu kod bolesnica s PCOS polučile su nekonzistentne rezultate; od nađenih istih vrijednosti u odnosu na kontrole (52) do nižih (53,54), ali i viših (55) vrijednosti grelina u žena s PCOS u odnosu na zdrave žene normalne i pretjerane tjelesne težine. Također su studije glede povezanosti grelina i vrijednosti androgena dale kontroverzne rezultate (52-56).

Istraživanja su pokazala da su niske koncentracije grelina povezane s povišenim rizikom nastanka dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti (57-59). Za razjašnjenje povezanosti abnormalne regulacije grelina s PCOS potrebne su daljnje studije.

#### **1.6.4.4. Rezistin**

Rezistin je 12.5 kDa protein otkriven 2001. godine u mišjim adipocitima. Kod glodavaca se rezistin isključivo luči u masnom tkivu i povezan je s povećanom produkcijom glukoze i porastom enzima glukoneogeneze u jetri te smanjenim iskorištavanjem glukoze u masnom tkivu i poprečno-prugastoj muskulaturi. Ova zbivanja u jetri, masnom tkivu i mišićju doprinose smanjenoj osjetljivosti na glukozu u glodavaca. Nadalje, vrijednosti rezistina u serumu glodavaca povišene su kod debljine i inzulinske rezistencije.

U usporedbi s mišjim, ekspresija rezistinske mRNA u adipocitima čovjeka je niska. Premda je nađeno kako rezistin mijenja proliferaciju humanih adipocita *in vitro*, on ne utječe na unos glukoze i fosforilaciju što navodi na razmišljanje kako rezistin u ljudi nije izravno uključen u homeostazu glukoze u masnim stanicama. Humani se rezistin, međutim, obilno luči u makrofazima i monocitima te vjerojatno utječe na inzulinsku rezistenciju putem proinflatornog učinka (60). U prilog ovome idu i izvješća o povezanosti razine serumskog rezistina s mnogim biljezima upale, uključujući C-reaktivni protein (CRP) (61), čimbenik nekroze tumora  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ili interleukin 6 (IL-6) (51). Uloga rezistina u nastanku inzulinske rezistencije kod ljudi još je uvijek nejasna. Nekoliko skupina istraživača pokazalo je da su povišene vrijednosti rezistina nađene u bolesnika s inzulinskom rezistencijom i dijabetesom tipa 2 (62-64), dok su druge studije navedeno opovrgle (65,66). Svega je nekoliko studija istraživalo ulogu rezistina kod bolesnica s PCOS. U nekim je studijama pokazano da su vrijednosti rezistina povišene kod bolesnica s PCOS neovisno o inzulinskoj rezistenciji i BMI (67-69), dok druge studije nisu našle razlike u vrijednostima rezistina u odnosu na zdravu populaciju (70). Nužne su veće studije koje bi ukazale na eventualnu ulogu rezistina u nastanku inzulinske rezistencije u bolesnica s PCOS.

Nekoliko je kliničkih i epidemioloških studija pokazalo povezanost između vrijednosti rezistina i proinflatornih citokina koji predstavljaju rizične čimbenike za nastanak kardiovaskularnih bolesti čak i kod žena s normalnom tjelesnom težinom (71-73). Potrebne su daljnje studije da bi se razjasnila uloga rezistina kao putativnog neovisnog pokazatelja kardiovaskularnog rizika.



## 1.7. Posljedice i rizici PCOS

Posljedice PCOS osjećaju se tijekom cijeloga života. Čini se da djeca s PCOS još intrauterino pokazuju veću učestalost zastoja u rastu, a tijekom prve godine života brzi prirast na težini (engl. *catch up growth*) što kasnije stvara rizik za inzulinsku rezistenciju i šećernu bolest tipa 2 (74). Također se čini da djevojčice s PCOS imaju prijevremenu pubarhu (prije osme godine života) te prijevremenu menarhu (75). Tijekom adolescencije i u reproduktivno doba češći su neredoviti menstrualni ciklusi, akne, neplodnost i karcinom endometrija. Kod žena s PCOS veća je učestalost spontanih pobačaja, gestacijskog dijabetesa, hipertenzije i preeklampsije. Žene s PCOS uglavnom kao rezultat komplikacija u trudnoći češće rađaju carskim rezom, veća je učestalost prijevremenih poroda kao i viši perinatalni mortalitet. Kod žena s PCOS češća je debljina, intolerancija glukoze, inzulinska rezistencija, dislipidemija i diabetes tipa 2. Češća je poremećena vaskularna i endotelna funkcija što zajedno s prethodno navedenim čimbenicima utječe na povišen rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti u žena s PCOS. Kod žena s PCOS češća je i apneja u spavanju, masna degeneracija jetre i depresija (1).

Centralna akumulacija masti, inzulinska rezistencija i kompenzatorna hiperinzulinemija te metabolički profil sličan metaboličkom sindromu česte su abnormalnosti kod žena s PCOS. Iako navedeni parametri ne predstavljaju kriterij za postavljanje dijagnoze PCOS oni mogu dodatno pogoršati endokrinološku manifestaciju hiperandrogenizma i ovulatornu disfunkciju. Studije su pokazale da 7-15% žena s PCOS već ima šećernu bolest tipa 2 do 30-te godine života, što je znatno veća učestalost od 1,4% koliko se nalazi u žena bez PCOS. Žene s PCOS imaju i veću učestalost hipertenzije, dislipidemije, disfunkcije endotela i kardiovaskularnih bolesti (76). Dislipidemija se nalazi u 70% žena s PCOS (77). Brojne studije ukazuju na povišenu učestalost ateroskleroze u odnosu na opću populaciju (76-81). Čini se da postoji povišen rizik ranog nastanka kardiovaskularnih bolesti kod žena s PCOS. Veća učestalost kardiovaskularnih bolesti nađena je i kod žena u postmenopauzi koje su prethodno bolovala od PCOS (82-84). Metabolički će sindrom razviti 46% žena s PCOS. Učestalost metaboličkog sindroma kod žena u dobi od 40 godina jednaka je učestalosti metaboličkog sindroma kod žena od 70 godina bez PCOS, što ovaj sindrom čini značajnim javno-zdravstvenim i socio-ekonomskim problemom.

## **2.0 HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

1. Vrijednosti adipokina u cirkulaciji žena s PCOS su povišene/snižene u odnosu na njihove vrijednosti u zdravih žena.
2. Vrijednosti adipokina razlikuju se među pojedinim podtipovima PCOS.
3. Vrijednosti adipokina stoje u korelaciji s vrijednostima androgena i inzulinskom rezistencijom, kao i s ostalim biokemijskim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika.

## **3.0. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Usporediti vrijednosti leptina, adiponektina, grelina i rezistina u serumu žena sa sindromom policističnih jajnika s vrijednostima navedenih adipokina u zdravih ispitanica.
2. Istražiti razlikuju li se vrijednosti leptina, adiponektina, grelina i rezistina među različitim podtipovima PCOS.
3. Evaluirati odnos između koncentracije leptina, adiponektina, grelina i rezistina s debljinom, vrijednostima androgena, inzulinskom rezistencijom te ostalim kliničkim i biokemijskim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika.

## 4.0 ISPITANICE I METODE

### 4.1. Ispitanice

#### 4.1.1. Istraživana skupina žena s PCOS

Skupinu ispitanica čini 151 žena u dobi od 18-35 godina u kojih je u Poliklinici za humanu reprodukciju, ginekološku endokrinologiju i menopauzu Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a i Medicinskog fakulteta u Zagrebu dijagnosticiran sindrom policističnih jajnika.

Dijagnoza PCOS postavljena je prema kriteriju Rotterdamskog konsenzusa koji definira PCOS kao postojanje barem dvije od moguće tri značajke:

1. oligo/anovulacije
2. klinički ili biokemijski znakovi povišenih androgena
3. policistični jajnici utvrđeni transvaginalnim ultrazvučnim pregledom

Druge endokrinopatije koje mogu davati kliničku sliku sličnu PCOS-u isključene su određivanjem serumskih vrijednosti 17-hidroksiprogesterona (17-OHP), prolaktina (PRL), tireotropnog stimulirajućeg hormona (TSH) i kortizola. Iz istraživanja su isključene žene koje boluju od dijabetesa, hipertenzije i aktivnih kardiovaskularnih bolesti. Žene uključene u studiju nisu uzimale niti jedan lijek, uključujući i oralne kontraceptive najmanje 6 mjeseci prije započinjanja istraživanja. Sve žene uključene u ovo istraživanje imale su oligo/anovulaciju, na što je upućivala oligo ili amenoreja te policističan izgled jajnika utvrđen ultrazvukom. Ultrazvučnu pretragu vršio je samo jedan pretraživač.

Nakon uvida u kliničke i laboratorijske značajke, bolesnice s PCOS podijeljene su u šest skupina:

- bolesnice s ITM  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> (prekomjerne tjelesne težine i pretile), s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika s hiperandrogenemijom i inzulinskom rezistencijom,
- bolesnice s ITM  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> (prekomjerne tjelesne težine i pretile), s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika s hiperandrogenemijom i bez inzulinske rezistencije,

- bolesnice s ITM  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> (prekomjerne tjelesne težine i pretile), s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika bez hiperandrogenemije i bez inzulinske rezistencije,
- bolesnice s ITM  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup> s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika, s hiperandrogenemijom i inzulinskom rezistencijom,
- bolesnice s ITM  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup> s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika, s hiperandrogenemijom i bez inzulinske rezistencije,
- bolesnice s ITM  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup> s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika, bez hiperandrogenemije i bez inzulinske rezistencije.

#### **4.1.2. Kontrolna skupina zdravih žena**

Kontrolnu skupinu predstavlja 95 žena s dokazanim ovulacijama (vrijednosti progesterona u luteinskoj fazi ciklusa  $\geq 22$  nmol/L dobivene u dva konzekutivna ciklusa, bez kliničkih znakova hiperandrogenizma i normalnom ultrazvučnom slikom jajnika) koje se u Klinici za ženske bolesti i porode liječe zbog neplodnosti uzrokovane isključivo muškim čimbenikom. Kontrolna skupina žena usklađena je po dobi i indeksu tjelesne mase s bolesnicama s PCOS.

Kontrolna skupina žena svrstana je u dvije skupine ovisno o ITM:

- žene sa ITM  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> (prekomjerne tjelesne težine i pretile)
- žene sa ITM  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup>

Prije uključanja u studiju svaka žena potpisala je privolu o sudjelovanju. Studija je odobrena od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## **4.2. Metode**

Sociodemografski podaci za svaku ispitanicu prikupljeni su detaljnom obiteljskom, zdravstvenom, reprodukcijom i ginekološkom anamnezom kroz opsežan upitnik. Prema izmjerenim antropometrijskim karakteristikama (visina, tjelesna težina i opseg struka)

izračunat je indeks tjelesne mase (ITM) prema formuli: tjelesna masa u kilogramima/kvadrat visine u metrima, a potom i omjer između struka i bokova (engl. *waist to hip ratio* - WHI). Sistolički i dijastolički krvni tlak mjereno je u mirovanju i ležećem položaju.

Uzorci krvi za početnu analizu sakupljeni su svim ženama uključenim u studiju u ranoj folikulinskoj fazi spontanog ili progesteronom induciranog menstruacijskog ciklusa (2-4 dan) iz periferne krvi. Određivani su slijedeći hormoni: luteinizirajući hormon (LH), folikulo-stimulirajući hormon (FSH), estradiol, ukupni i slobodni testosteron, androstendion, dehidroepiandrosteron sulfat (DHEAS), globulin koji veže spolne hormone (engl. *sex hormone binding globulin* - SHBG), 17-hidroksiprogesteron (17-OHP), prolaktin (PRL), tireotropni hormon (TSH), kortizol kao i glukoza, inzulin određen na tašte, test opterećenja šećerom (engl. *oral glucose tolerance test* - OGTT) te profil lipida (ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi).

U procjeni inzulinske rezistencije korišten je HOMA (engl. *homeostasis model assessment*) indeks koji se računa prema formuli:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{koncentracija glukoze (mmol/L)} \times \text{inzulin } (\mu\text{IU/mg})}{22,5}$$

pri čemu vrijednost  $>2,5$  ukazuje na inzulinsku rezistenciju.

Navedena hormonsko-biokemijska analiza spada u standardni protokol koji se koristi prije započinjanja medikamentoznog liječenja bolesnica s PCOS. Dodatno je uzeto 10ml venske krvi svim ženama uključenim u studiju, radi određivanja vrijednosti leptina, adiponektina, grelina i rezistina i visoko osjetljivog C- reaktivnog proteina (engl. *high sensitive CRP* – hsCRP).

Kontrolnoj skupini žena su u sklopu standardne obrade postojanja ovulacija učinjene slijedeće pretrage: FSH, LH, estradiol, PRL i TSH. Dodatno su za potrebe studije određeni još i: OGTT, inzulin, profil lipida, adipokini i hsCRP. Test oralne podnošljivosti glukoze (OGTT) proveden je standardnim opterećenjem po preporukama Svjetske zdravstvene organizacije sa 75g glukoze. Glukoza je mjerena natašte i 2 sata nakon uzimanja glukoze.

Određivanje i analiza hormona, glukoze, inzulina i lipidnog profila i hsCRP-a izvršeni su istog dana u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a i Medicinskog fakulteta u Zagrebu. Svi uzorci za određivanje leptina, adiponektina, grelina i rezistina centrifugirani su unutar jednog sata od vađenja te potom zamrznuti na  $-20^{\circ}\text{C}$  i tako pohranjeni do krajnje analize.

## 4.2.1 Klinička i biokemijska analiza

### 4.2.1.1. Ultrazvučna ocjena izgleda jajnika

Jajnici su okarakterizirani kao policistični transvaginalnim ultrazvukom ako je:

- prisutno 12 i više folikula (2 – 9mm promjera) u jajnicima
- povećan volumen jajnika više od 10ml
- opisan nalaz nazočan i u samo jednom jajniku

### 4.2.1.2. Određivanje redovitosti menstruacijskog ciklusa

Oligomenoreja je definirana s manje od 9 menstrualnih krvarenja godišnje ili menstruacijskim ciklusima duljim od 35 dana. Amenoreja se definira kao izostanak menstruacije više od 3 mjeseca (bez trudnoće) i javlja se puno rjeđe, u 20-30% svih poremećaja menstruacijskog ciklusa. No redoviti menstruacijski ciklus nije siguran pokazatelj postojanja ovulacije. Mjerenjem progesterona u luteinskoj fazi, od 21-23 dana ciklusa, može se s velikom sigurnošću ocijeniti prisutnost ovulacije. Vrijednost progesterona veća od 22.5 nmol/L u luteinskoj fazi ciklusa smatra se dokazom ovulacije u tom menstruacijskom ciklusu.

### 4.2.1.3. Određivanje vrijednosti androgena

Stanje biokemijske hiperandrogenemije, povišenih koncentracija androgena u krvi konstatirano je, ukoliko je bilo koji od androgena bio veći od referentnog raspona: ukupni testosteron, slobodni testosteron, androstendion, DHEAS što je prikazano na tablici 3.

**Tablica 3.** Referentne vrijednosti androgena u žena

Hormon	Referentni raspon
Ukupni testosteron (nmol/L)	0,2 – 2,5
Slobodni testosteron (pmol/L)	3,5 – 30
Androstendion (nmol/L)	1 – 12
DHEAS (µmol/L)	2 - 10

#### **4.2.1.4. Određivanje koncentracije FSH**

Koncentracija FSH određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: dvostrani imunometrijski test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Ortho Clinical Diagnostics, Johnson&Johnson Company, USA). Analitička osjetljivost metode je 0,5 IJ/L, mjerni raspon od 0,5-200 IJ/L, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 2,4%. Križna reakcija s LH (400 IJ/L) manja je od 5%, a s TSH (250 mIJ/L) do 10%.

#### **4.2.1.5. Određivanje koncentracije LH**

Koncentracija LH određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: dvostrani imunometrijski test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Ortho Clinical Diagnostics, Johnson&Johnson Company, USA). Analitička osjetljivost metode je 0,5 IJ/L, mjerni raspon od 0,5-200 IJ/L, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 6,8%. Križna reakcija s FSH (400 IJ) i TSH (200 IJ) manja je od 10%.

#### **4.2.1.6. Određivanje koncentracije prolaktina**

Koncentracija prolaktina određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: dvostrani imunometrijski test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Ortho Clinical Diagnostics, Johnson&Johnson Company, USA). Analitička osjetljivost metode je 1,4 µg/L, mjerni raspon od 1,4-329 µg/L, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 5,6%. Križna reakcija s FSH, LH, TSH, hCG manja je od 10%.

#### **4.2.1.7. Određivanje koncentracije estradiola**

Koncentracija estradiola određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: kompetitivni test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Ortho Clinical Diagnostics, Johnson&Johnson Company, USA). Analitička osjetljivost metode je 10 pmol/L, mjerni raspon od 10-15000 pmol/l, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 5,3%. Križna reakcija s estriolom manja je od 0,5% i s estronom manja od 3,1%.

#### **4.2.1.8. Određivanje koncentracije progesterona**

Koncentracija progesterona određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: kompetitivni test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Ortho Clinical Diagnostics, Johnson&Johnson Company, USA). Analitička osjetljivost metode je 0,25 nmol/L, mjerni raspon od 0,25-178 nmol/l, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 5,0%. Križna reakcija s kortikosteronom i 11-deoksikortikosteronom manja je od 3%.

#### **4.2.1.9. Određivanje koncentracije testosterona**

Koncentracija testosterona određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: kompetitivni test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Ortho Clinical Diagnostics, Johnson&Johnson Company, USA). Analitička osjetljivost metode je 0,03 nmol/L, mjerni raspon od 0,03-75 nmol/l, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 3,1%. Križna reakcija s 11 $\beta$ -OH testosteronom manja je od 6,2% i s 11-ketotestosteronom manja od 10%.

#### **4.2.1.10. Određivanje koncentracije androstendiona**

Koncentracija androstendiona određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije ELISA, kompetitivni test; načelo mjerenja spektrofotometrija; proizvođač DRG, Njemačka). Analitička osjetljivost metode je 0,14 nmol/L, mjerni raspon od 0,14-34,5 nmol/l, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 8,1%. Križna reakcija manja je od 1% s testosteronom, estradiolom, progesteronom i DHEAS.

#### **4.2.1.11. Određivanje koncentracije DHEAS**

Koncentracija DHEAS određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije ELISA, kompetitivni test; načelo mjerenja spektrofotometrija; proizvođač DRG, Njemačka). Analitička osjetljivost metode je 0,13  $\mu$ mol/L, mjerni raspon od 0,13-26  $\mu$ mol/l, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 8,2%. Križna reakcija manja je od 1% s testosteronom i estradiolom, do 4,7 % s progesteronom, do 11% s androstendionom.



#### **4.2.1.12. Određivanje koncentracije SHBG**

Koncentracija SHBG određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije ELISA, imunometrijski test; načelo mjerenja spektrofotometrija; proizvođač DRG, Njemačka). Analitička osjetljivost metode je 0,2 nmol/L, mjerni raspon od 0,2- 280 nmol/l, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 7,2%. Križne reakcije nisu zabilježene.

#### **4.2.1.13. Određivanje koncentracije slobodnog testosterona**

Slobodni testosteron određuje se iz koncentracija ukupnog testosterona i SHBG iz zakona masa:

$$\underline{\text{Ukupni T} = \text{slobodniT} + \text{albumin} - \text{vezaniT} + \text{SHBG} - \text{vezaniT}}$$

#### **4.2.1.14. Određivanje koncentracije inzulina**

Koncentracija inzulina određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: dvostrani imunometrijski test; načelo mjerenja: luminiscentno zračenje; proizvođač: Diagnostic Products Corporation DPC, LA, USA). Analitička osjetljivost metode je 2,0 mIJ/L, mjerni raspon od 2,0-300 mIJ/L, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 1,4%. Ne postoji križna reakcija s proinzulinom.

#### **4.2.1.15. Određivanje koncentracije glukoze, kolesterola, triglicerida, HDL i LDL kolesterola**

Glukoza, kolesterol, HDL-kolesterol i trigliceridi su određivani automatiziranim rutinskim preporučenim spektrofotometrijskim metodama (proizvođača Siemens Dade Behring, USA) na analizatoru Dimension Xpand, tvrtke Siemens.

Koncentracija LDL-kolesterola dobivena je računski iz koncentracija ukupnog kolesterola, HDL-kolesterola i triglicerida prema formuli:

$$\text{LDL-kolesterol} = \text{ukupni kolesterol} - \text{HDL-kolesterol} - \text{trigliceridi}/2,2$$

#### **4.2.1.16. Određivanje koncentracije C-reaktivnog proteina (CRP)**

Koncentracija CRP mjerena je visokoosjetljivom imunoturbidimetrijskom automatiziranom metodom mjernog raspona od 0,1-250 mg/L na analizatoru Dimension Xpand Siemens, proizvođača Dade-Behring, Siemens.

#### **4.2.1.17. Određivanje koncentracije adiponektina**

Koncentracija adiponektina određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije ELISA, kompetitivni test; načelo mjerenja spektrofotometrija; proizvođač BioVendor, Češka). Adiponektin u uzorku natječe se s peroksidazom obilježenim adiponektinom za ograničen broj raspoloživih specifičnih protutijela imobiliziranih na unutrašnjoj površini jažica. Nakon inkubacije, nevezani materijal odvaja se ispiranjem. Dodaje se supstrat peroksidaze tetrametilbenzidin (TMB) i mjeri promjena boje spektrofotometrijski. Količina peroksidaze specifično vezane posredstvom obilježenog antigena u kompleks s antitijelom obrnuto je proporcionalna koncentraciji adiponektina u serumu. Analitička osjetljivost metode je 0,026 µg/ml, mjerni raspon od 0,026-100 µg/ml, a koeficijenti varijacije unutar serije nisu veći od 5,9%. Križna reakcija s leptinom, rezistinom i leptinskim receptorom nije zabilježena.

#### **4.2.1.18. Određivanje koncentracije rezistina**

Koncentracija rezistina određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: imunometrijski-antitijelo prisutno u suvišku; načelo mjerenja: spektrofotometrijski; proizvođač: DRG International, SAD). U reakciji su korištene mikrotitracijske jažice s imobiliziranim anti-rezistin antitijelom u kojima se inkubiraju standardi, kontrole i uzorci seruma. Nakon ispiranja dodaje se drugo, detekcijsko anti-rezistin antitijelo obilježeno biotinom. Nakon inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje streptavidin-peroksidaza. Nakon treće inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje supstrat tetrametilbenzidin (TMB). Enzimska reakcija prekida se dodatkom kiseline, a intenzitet promjene boje supstrata mjeri se spektrofotometrijski pri 450 nm i direktno je proporcionalan koncentraciji rezistina u uzorcima. Analitička osjetljivost metode je 0,033 ng/ml, mjerni raspon od 0,033-50 ng/ml koeficijent varijacije iz dana u dan ne prelazi 6,9%, a u seriji 3,4%. Specifičnost testa je postignuta monoklonskim antitijelima specifičnim za rezistin i rekombinantnim standardom

rezistina. Nisu zabilježene križne reakcije s leptinom, leptinskim receptorima, adiponektinom i TNF-alfa.

#### **4.2.1.19. Određivanje koncentracije grelina**

Koncentracija grelina određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: imunometrijski-antitijelo prisutno u suvišku; načelo mjerenja: spektrofotometrijski; proizvođač: DRG International, SAD). U reakciji su korištene mikrotitracijske jažice s imobiliziranim anti-grelina antitijelom u kojima se inkubiraju standardi, kontrole i uzorci seruma. Nakon ispiranja dodaje se drugo, detekcijsko anti-grelina antitijelo obilježeno biotinom. Nakon inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje streptavidin-peroksidaza. Nakon treće inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje supstrat tetrametilbenzidin (TMB). Enzimska reakcija prekida se dodatkom kiseline, a intenzitet promjene boje supstrata mjeri se spektrofotometrijski pri 450 nm i direktno je proporcionalan koncentraciji grelina u uzorcima. Analitička osjetljivost metode je 100 pg/ml, mjerni raspon od 100-5000 pg/ml koeficijent varijacije iz dana u dan ne prelazi 7,7%, a u seriji 1,9%. Nisu zabilježene križne reakcije s leptinom, inzulinom, glukagonom i c-peptidom.

#### **4.2.1.20. Određivanje koncentracije leptina**

Koncentracija leptina određivana je imunokemijskom metodom (načelo reakcije: imunometrijski-antitijelo prisutno u suvišku; načelo mjerenja: spektrofotometrijski; proizvođač: DRG International, SAD). U reakciji su korištene mikrotitracijske jažice s imobiliziranim anti-leptina antitijelom u kojima se inkubiraju standardi, kontrole i uzorci seruma. Nakon ispiranja dodaje se drugo, detekcijsko antitijelo obilježeno biotinom. Nakon inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje streptavidin-peroksidaza. Nakon treće inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje supstrat tetrametilbenzidin (TMB). Enzimska reakcija prekida se dodatkom kiseline, a intenzitet promjene boje supstrata mjeri se spektrofotometrijski pri 450 nm i direktno je proporcionalan koncentraciji leptina u uzorcima. Analitička osjetljivost metode je 0,1 ng/ml, mjerni raspon od 0,1-100 ng/ml. Koeficijent varijacije iz dana u dan ne prelazi 5,8%, a u seriji 4,1%. Nisu zabilježene križne reakcije s rezistinom i adiponektinom i grelinom.

### 4.3. Statistička analiza

Podaci su analizirani statističkim postupcima ispitivanja razlika i povezanosti pomoću SPSS 17 (IBM, Somers, New York). Normalnom raspodjelom kontinuirane varijable smatrala se svedenost i zaobljenost raspodjela manja od 1. Također se pravilnost raspodjele provjerila Smirnov-Kolmogorovljevim testom. Nominalni pokazatelji su prikazani raspodjelom učestalosti po skupinama i udjelom. Za utvrđivanje razlika između dva nezavisna uzorka upotrijebljen je Studentov t test, a za utvrđivanje razlika između više od dva nezavisna uzorka upotrijebljena je ANOVA te Hochbergov test za *post hoc* analizu. Za utvrđivanje razlika među proporcijama između više od dva nezavisna uzorka je upotrijebljen Pearsonov  $\chi^2$ , pa  $\chi^2$  za *post hoc* analizu. Za utvrđivanje povezanosti uzorka je upotrijebljen Spearmanov rho test za neparametrijsku analizu. Za utvrđivanje prediktivnih vrijednosti seta varijabli na određenu kontinuiranu varijablu upotrijebljena je standardna multipla linearna regresija. Statistička značajnost je prihvaćena uz  $p < 0,05$ .

### 4.4. Etička načela

Navedeno istraživanje provedeno je se u skladu sa etičkim načelima i po principima dobre kliničke prakse, uz odobrenje Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Zagreb te Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Bolesnice su detaljno, usmenim i pismenim putem, upoznate i informirane o korištenim metodama koje se i inače rutinski koriste u kliničkoj praksi. Svaka je bolesnica kao i žena u kontrolnoj skupini potpisala svoj informirani pristanak o sudjelovanju u studiji.

## 5.0. REZULTATI

### 5.1. Kliničke, hormonalne i biokemijske značajke u ispitanica

Među ispitivanim skupinama nije bilo značajne razlike prema dobi i omjeru struk/bokovi, dok je indeks tjelesne mase (ITM) bio značajno viši u skupini ispitanica s PCOS ( $p=0,03$ ). U usporedbi s kontrolnom skupinom bolesnice s PCOS imale su značajno povišene vrijednosti inzulina, HOMA indeksa, luteinizirajućeg hormona (LH), ukupnog i slobodnog testosterona ( $p<0,001$ ) i značajno snižene vrijednosti folikulostimulirajućeg hormona (FSH), globulina koji veže spolne hormone (SHBG) ( $p<0,001$ ). LDL je u skupini PCOS ispitanica bio značajno povišen ( $p<0,001$ ), a HDL značajno snižen ( $p<0,001$ ). CRP je također bio značajno viši u skupini bolesnica s PCOS ( $p<0,001$ ). Razlike i njihova statistička značajnost prikazane su u tablici 4.

**Tablica 4.** Kliničke, hormonalne i biokemijske značajke u ispitanica

	SKUPINA					
	KONTROLNA (N=95)		PCOS (N=151)		*t	p
	X	SD	X	SD		
<b>DOB</b> (godine)	26,40	2,67	26,51	5,97	-0,191	0,849
<b>ITM</b>	23,28	4,14	24,78	4,78	-2,508	0,013
<b>OMJER STRUK/ BOKOVI</b>	0,79	0,07	0,79	0,08	,151	0,880
<b>INZULIN</b> (mIU/L)	6,56	2,65	13,32	15,05	-5,387	<0,001
<b>HOMA IR</b>	1,30	0,55	2,67	3,04	-5,377	<0,001
<b>UKUPNI KOLESTEROL</b> (mmol/L)	4,26	0,35	4,52	0,37	-5,457	<0,001
<b>TRIGLICERIDI</b> (mmol/L)	1,69	0,16	1,44	0,38	7,303	<0,001
<b>HDL</b> (mmol/L)	2,06	,32	1,47	0,25	15,633	<0,001
<b>LDL</b> (mmol/L)	1,43	0,21	2,40	0,48	-21,721	<0,001
<b>CRP</b> (mg/L)	1,47	0,61	2,12	0,52	-8,545	<0,001
<b>FSH</b> (IU/L)	5,51	1,60	3,64	1,24	9,689	<0,001
<b>LH</b> (IU/L)	3,90	1,09	8,47	4,13	-12,892	<0,001
<b>UKUPNI TESTOSTERON</b> (nmol/L)	1,24	0,44	2,30	0,98	-11,514	<0,001
<b>SLOBODNI TESTOSTERON</b> (pmol/L)	14,32	6,83	42,67	25,08	-13,135	<0,001
<b>SHBG</b> (nmol/L)	71,08	21,69	43,42	31,14	7,564	<0,001

\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

Razlike u kliničkim, hormonalnim i biokemijskim značajkama između kontrolne skupine ispitanica i ispitanica u PCOS skupini, a s ITM-om manjim od 25 su prikazane u tablici 5, zajedno s vrijednošću Studentovog t testa nezavisnih uzoraka i vrijednošću p.

**Tablica 5.** Kliničke, hormonalne i biokemijske značajke u ispitanica normalne težine

	ITM ≤25					
	KONTROLNA (N=77)		PCOS (N=97)			
	X	SD	X	SD	*t	p
<b>ITM</b>	21,81	1,79	22,35	1,69	-2,046	0,042
<b>OMJER STRUK/ BOKOVI</b>	0,78	0,07	0,77	0,07	1,286	0,200
<b>HOMA IR</b>	1,27	0,58	2,24	2,24	-4,082	<0,001
<b>INZULIN (mIU/L)</b>	6,46	2,74	11,00	9,10	-4,650	<0,001
<b>FSH (IU/L)</b>	5,52	1,55	3,73	1,17	8,420	<0,001
<b>LH (IU/L)</b>	3,97	1,09	9,17	4,67	-10,607	<0,001
<b>UKUPNI TESTOSTERON (nmol/L)</b>	1,23	0,44	2,31	0,87	-10,658	<0,001
<b>SLOBODNI TESTOSTERON (pmol/L)</b>	14,21	6,95	40,73	22,51	-10,965	<0,001
<b>SHBG (nmol/L)</b>	71,36	21,97	47,69	33,77	5,306	<0,001
<b>UKUPNI KOLESTEROL (mmol/L)</b>	4,18	0,30	4,41	0,36	-4,421	<0,001
<b>TRIGLICERIDI (mmol/L)</b>	1,71	0,15	1,29	0,36	10,442	<0,001
<b>HDL (mmol/L)</b>	2,00	0,29	1,51	0,24	12,003	<0,001
<b>LDL (mmol/L)</b>	1,40	0,14	2,31	0,49	-17,439	<0,001
<b>CRP (mg/L)</b>	1,40	0,61	2,06	0,53	-7,633	<0,001

\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

Kada smo u razmatranje uzeli samo žene normalne težine, bolesnice s PCOS imale su značajno povišene vrijednosti inzulina, HOMA indeksa, luteinizirajućeg hormona (LH), ukupnog i slobodnog testosterona ( $p < 0,001$ ) i značajno snižene vrijednosti folikulostimulirajućeg hormona (FSH), globulina koji veže spolne hormone (SHBG) ( $p < 0,001$ ) u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanica. LDL je u skupini ispitanica bio značajno povišen ( $p < 0,001$ ), a HDL značajno snižen ( $p < 0,001$ ). CRP je bio značajno viši u PCOS skupini ( $p < 0,001$ ).

Razlike u kliničkim, hormonalnim i biokemijskim značajkama između kontrolne skupine ispitanica i ispitanica u PCOS skupini, a s ITM-om većim od 25 su prikazane u tablici 6, zajedno s vrijednošću Studentovog t testa nezavisnih uzoraka i vrijednošću p.

**Tablica 6.** Kliničke, hormonalne i biokemijske značajke u ispitanica prekomjerne težine

	ITM $\geq$ 25					
	KONTROLNA (N=18)		PCOS (N= 54)			
	X	SD	X	SD	*t	p
<b>ITM</b>	29,60	5,33	29,14	5,42	0,314	0,755
<b>OMJER STRUK/ BOKOVI</b>	0,83	0,08	0,83	0,09	0,111	0,912
<b>HOMA IR</b>	1,42	0,43	3,43	4,02	-3,623	0,001
<b>INZULIN (mIU/L)</b>	6,99	2,24	17,49	21,53	-3,528	0,001
<b>FSH (IU/L)</b>	5,46	1,85	3,49	1,34	4,877	<0,001
<b>LH (IU/L)</b>	3,61	1,04	7,21	2,52	-8,552	<0,001
<b>UKUPNI TESTOSTERON (nmol/L)</b>	1,29	0,45	2,27	1,16	-5,156	<0,001
<b>SLOBODNI TESTOSTERON (pmol/L)</b>	14,83	6,47	46,15	29,03	-7,396	<0,001
<b>SHBG (nmol/L)</b>	69,89	20,99	35,92	24,39	5,288	<0,001
<b>UKUPNI KOLESTEROL (mmol/L)</b>	4,62	0,31	4,73	0,29	-1,357	0,179
<b>TRIGLICERIDI (mmol/L)</b>	1,61	0,15	1,70	0,27	-1,382	0,171
<b>HDL (mmol/L)</b>	2,34	0,30	1,39	0,24	13,712	<0,001
<b>LDL (mmol/L)</b>	1,55	0,37	2,57	0,43	-9,043	<0,001
<b>CRP (mg/L)</b>	1,78	0,56	2,22	0,47	-3,298	0,002

\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

U uzorku ispitanica prekomjerne težine, bolesnice s PCOS imale su značajno više vrijednosti inzulina, HOMA indeksa, luteinizirajućeg hormona (LH), ukupnog i slobodnog testosterona ( $p < 0,001$ ) i značajno snižene vrijednosti folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i globulina koji veže spolne hormone (SHBG) ( $p < 0,001$ ) u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanica. LDL je u PCOS skupini bio značajno povišen ( $p < 0,001$ ), a HDL značajno snižen ( $p < 0,001$ ). U PCOS skupini nađene su i značajno više vrijednosti CRP ( $p = 0,002$ ).

Razlike u kliničkim, hormonalnim i biokemijskim značajkama između dvaju podskupina ispitanica u PCOS skupini s obzirom na ITM su prikazane u tablici 7, zajedno s vrijednošću Studentovog t testa nezavisnih uzoraka i vrijednošću p.

**Tablica 7.** Kliničke, hormonalne i biokemijske značajke u bolesnica s PCOS obzirom na indeks tjelesne mase

	SKUPINA PCOS					
	ITM ≤25 (N=97)		ITM ≥25 (N=54)		*t	p
	X	SD	X	SD		
<b>ITM</b>	22,35	1,69	29,14	5,42	-8,966	<0,001
<b>OMJER STRUK/ BOKOVI</b>	0,77	0,07	0,83	0,09	-4,472	<0,001
<b>HOMA IR</b>	2,24	2,24	3,43	4,02	-2,010	0,048
<b>INZULIN (mIU/L)</b>	11,00	9,10	17,49	21,53	-2,113	0,039
<b>FSH (IU/L)</b>	3,73	1,17	3,49	1,34	1,126	0,262
<b>LH (IU/L)</b>	9,17	4,67	7,21	2,52	3,345	0,001
<b>UKUPNI TESTOSTERON (nmol/L)</b>	2,31	0,87	2,27	1,16	0,245	0,807
<b>SLOBODNI TESTOSTERON (pmol/L)</b>	40,73	22,51	46,15	29,03	-1,277	0,203
<b>ANDROSTENDION (nmol/L)</b>	11,16	4,90	10,44	3,60	0,945	0,346
<b>DHEAS (μmol/L)</b>	6,58	2,46	6,68	2,56	-0,242	0,809
<b>SHBG (nmol/L)</b>	47,69	33,77	35,92	24,39	2,248	0,026
<b>UKUPNI KOLESTEROL (mmol/L)</b>	4,41	0,36	4,73	0,29	-6,049	<0,001
<b>TRIGLICERIDI (mmol/L)</b>	1,29	0,36	1,70	0,27	-7,881	<0,001
<b>HDL (mmol/L)</b>	1,51	0,24	1,39	0,24	2,894	0,004
<b>LDL (mmol/L)</b>	2,31	0,49	2,57	0,43	-3,300	0,001
<b>CRP (mg/L)</b>	2,06	0,53	2,22	0,47	-1,834	0,069

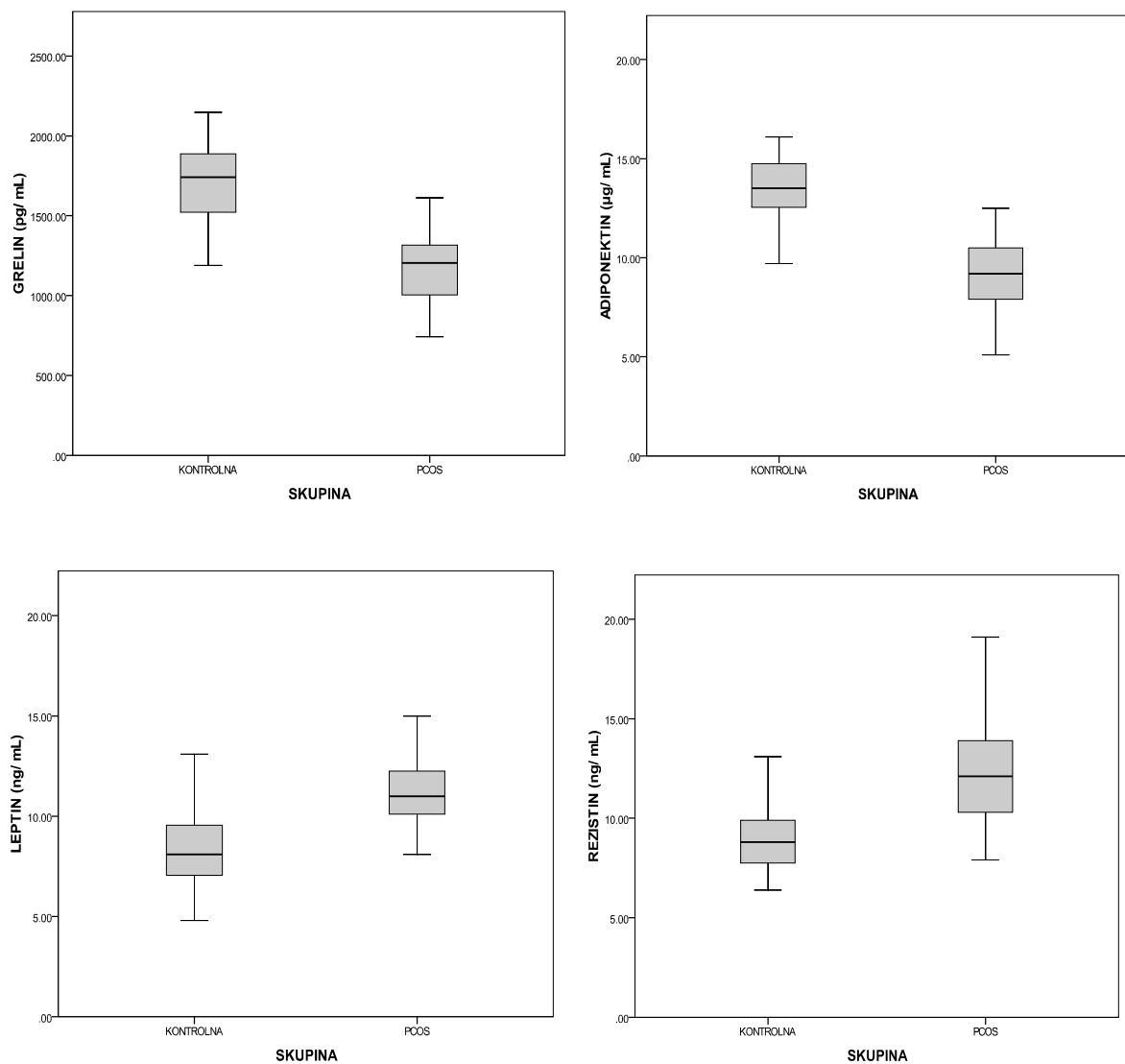
\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

Podskupina PCOS ispitanica prekomjerne težine imala je značajno više vrijednosti inzulina ( $p=0,039$ ), HOMA indeksa ( $p=0,048$ ), luteinizirajućeg hormona (LH) ( $p=0,001$ ) i značajno snižene vrijednosti globulina koji veže spolne hormone (SHBG) ( $p=0,026$ ) u odnosu na podskupinu PCOS ispitanica normalne težine. Također su nađene i značajno više vrijednosti kolesterola ( $p<0,001$ ) i triglicerida ( $p<0,001$ ) u podskupini PCOS ispitanica prekomjerne težine. LDL je u ovoj podskupini bio značajno povišen ( $p=0,001$ ), a HDL značajno snižen ( $p=0,004$ ) u odnosu na podskupinu ispitanica normalne težine.



## 5.2. Razine adiponektina, grelina, leptina i rezistina u žena s PCOS i zdravih ispitanica

**Grafikon 1.** Grafički prikaz koncentracije adiponektina, leptina, grelina i rezistina u žena s PCOS i zdravih ispitanica



Serumske koncentracije grelina i adiponektina bile su značajno niže ( $p < 0,001$ ), a koncentracije leptina i rezistina značajno više ( $p < 0,001$ ) u ispitanica s PCOS u odnosu na zdrave žene.

U tablici 8. su prikazane razlike u koncentracijama adipokina između ispitanica u kontrolnoj skupini i PCOS skupini, s ITM jednakim ili manjim od 25.

**Tablica 8.** Razine adipokina u žena s PCOS i zdravih ispitanica normalne težine

	ITM ≤25				*t	p
	KONTROLNA (N= 77)		PCOS (N= 97)			
	X	SD	X	SD		
GRELIN (pg/ml)	1775,77	174,10	1279,05	151,47	20,106	<0,001
ADIPONEKTIN (μg/ml)	13,86	1,32	9,54	1,30	21,587	<0,001
LEPTIN (ng/ml)	7,66	1,33	10,52	1,29	-14,325	<0,001
REZISTIN (ng/ml)	8,48	1,15	11,44	1,90	-12,702	<0,001

\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

Statističku značajnost razlike u koncentracijama svih adipokina među ispitivanim skupinama utvrdili smo i onda kada smo skupine uskladili prema indeksu tjelesne mase. Razlika u koncentracijama se donekle smanjuje kod leptina i rezistina kako ITM ispitanica raste, ali je još uvijek statistički značajna ( $p=0,007$ ;  $p=0,002$ , kako slijedi). Razlike su prikazane na tablicama 8. i 9.

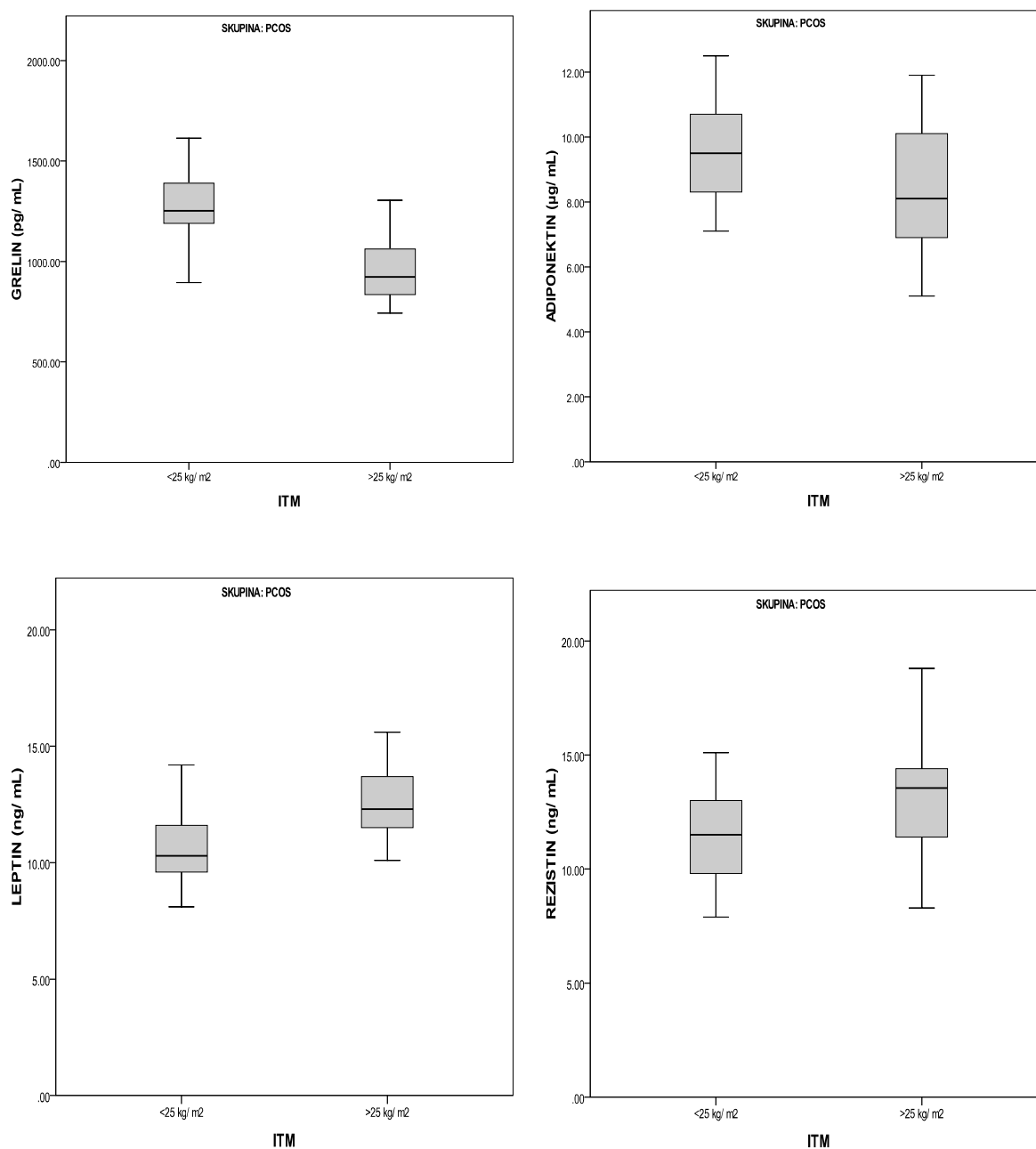
U tablici 9. su prikazane razlike u koncentracijama adipokina između ispitanica u kontrolnoj skupini i PCOS skupini, s ITM jednakim ili većim od 25.

**Tablica 9.** Razine adipokina u žena s PCOS i zdravih ispitanica prekomjerne težine

	ITM ≥25				*t	p
	KONTROLNA (N=18)		PCOS (N=54)			
	X	SD	X	SD		
GRELIN (pg/ml)	1325,44	79,23	971,48	167,39	12,017	<0,001
ADIPONEKTIN (μg/ml)	12,10	1,49	8,39	1,95	8,415	<0,001
LEPTIN (ng/ml)	11,49	1,01	12,49	1,42	-2,764	0,007
REZISTIN (ng/ml)	11,29	1,65	13,34	2,45	-3,293	0,002

\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

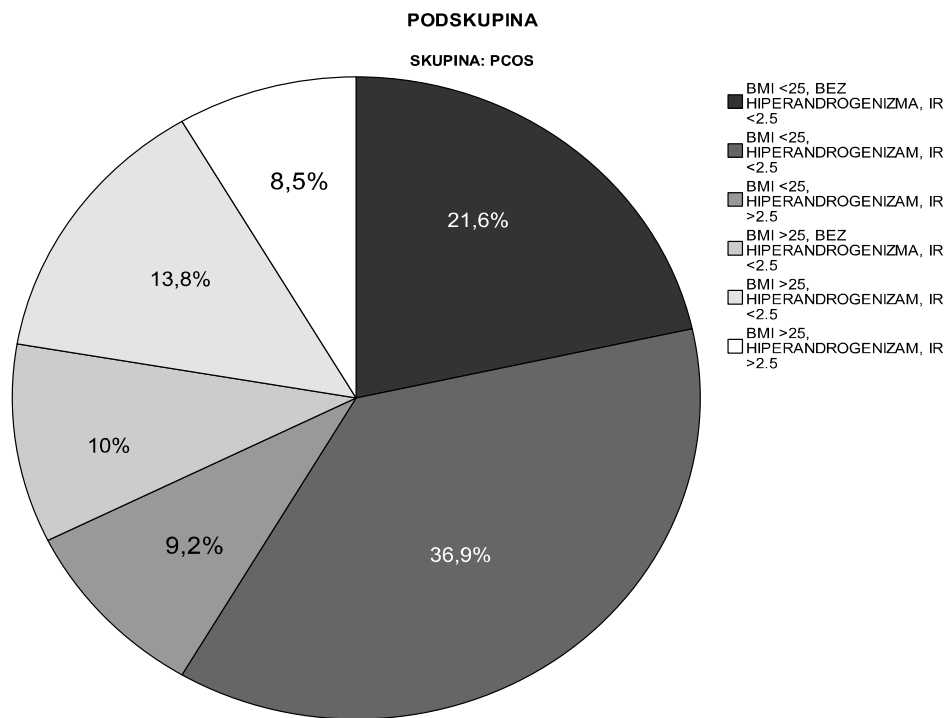
**Grafikon 2.** Razine adipokina unutar skupine žena s PCOS obzirom na težinu



Usporedbom koncentracija adipokina između bolesnica s PCOS normalne težine ( $ITM \leq 25$ ) i onih s prekomjernom težinom ( $ITM \geq 25$ ), utvrdili smo značajno manje koncentracije grelina i adiponektina ( $p < 0,001$ ) i značajno veće koncentracije leptina i rezistina ( $p < 0,001$ ) u podskupini PCOS ispitanica prekomjerne težine (grafikon 2).

### 5.3. Vrijednosti leptina, adiponektina, grelina i rezistina u različitim podtipova PCOS

**Grafikon 3.** Grafički prikaz raspodjele bolesnica s PCOS prema fenotipu



Ispitanice s PCOS raspodijeljene su u 6 podskupina prema težini fenotipa (grafikon 3):

- bolesnice s BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>, s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika s hiperandrogenemijom i inzulinskom rezistencijom (8,5%),
- bolesnice s BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>, s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika s hiperandrogenemijom i bez inzulinske rezistencije (13,8%),
- bolesnice s BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>, s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika bez hiperandrogenemije i bez inzulinske rezistencije (10,0%),
- bolesnice s BMI  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup>, s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika, s hiperandrogenemijom i inzulinskom rezistencijom (9,2%),
- bolesnice s BMI  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup>, s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika, s hiperandrogenemijom i bez inzulinske rezistencije (36,9%),
- bolesnice s BMI  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup>, s ovulatornom disfunkcijom i ultrazvučnim dokazom policističnih jajnika, bez hiperandrogenemije i bez inzulinske rezistencije (21,6%).

**Tablica 10.** Prikaz razlika u koncentracijama grelina između PCOS ispitanica raspodijeljenih u 6 podskupina s obzirom na fenotip, zajedno s p vrijednostima post hoc analize Hochbergovim testom nakon analize varijanci.

	<b>GRELIN</b>					
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>
	ITM <25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5	ITM >25 BEZ HIPER- ANDROGENIZM A IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5
N	28	48	12	13	18	11
X	1323,86	1285,60	1190,42	978,00	1044,33	862,27
SD	174,01	129,16	179,46	178,88	194,26	91,17
*p	A:B p=0,995; A:C p=0,202; <b>A:D p&lt;0,001</b> ; <b>A:E p&lt;0,001</b> ; <b>A:F p&lt;0,001</b> ; B:C p=0,611; <b>B:D p&lt;0,001</b> ; <b>B:E p&lt;0,001</b> ; <b>B:F p&lt;0,001</b> ; C:D p=0,015; C:E p=0,187; <b>C:F p&lt;0,001</b> ; D:E p=0,984; D:F p=0,676; E:F p=0,044					

ANOVA F(2,124)=24,966; p<0,001; \*Hochbergov test za *post hoc* analizu

Na tablici 10. vidljivo je kako vrijednosti koncentracija grelina pokazuju tendenciju pada s porastom težine fenotipa. Pronađena je statistički značajna negativna povezanost s velikim negativnim koeficijentom povezanosti između koncentracije grelina i fenotipa PCOS ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenizma i veće inzulinske rezistencije, to je bila manja koncentracija grelina ( $r=0,623$ ;  $p<0,001$ ). Nađena je statistički značajna razlika između pojedinih podskupina s lakšim i težim fenotipom PCOS kako slijedi: A:D ( $p<0,001$ ), A:E ( $p<0,001$ ), A:F ( $p<0,001$ ), B:D ( $p<0,001$ ), B:E ( $p<0,001$ ), B:F ( $p<0,001$ ), C:F ( $p<0,001$ ).

**Tablica 11.** Prikaz razlika u koncentracijama adiponektina između PCOS ispitanica raspodijeljenih u 6 podskupina s obzirom na fenotip, zajedno s p vrijednostima post hoc analize Hochbergovim testom nakon analize varijanci.

	ADIPONEKTIN					
	A	B	C	D	E	F
	ITM <25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5	ITM >25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5
N	28	48	12	13	18	11
X	9,69	9,64	9,46	8,85	7,94	7,69
SD	1,16	1,40	1,39	1,90	2,04	1,76
*p	A:B p=1; A:C p=1; A:D p=0,801; <b>A:E p=0,004</b> ; <b>A:F p=0,006</b> ; B:C p=1; B:D p=0,793; <b>B:E p=0,002</b> ; <b>B:F p=0,004</b> ; C:D p=0,996; C:E p=0,131; C:F p=0,098; D:E p=0,816; D:F p=0,649; E:F p=1					

ANOVA F(2,124)=6,015; p<0,001; \*Hochbergov test za *post hoc* analizu

Stalni pad vrijednosti koncentracija adiponektina s porastom težine PCOS fenotipa možemo iščitati iz tablice 11. Pronađena je statistički značajna negativna povezanost sa srednje velikim negativnim koeficijentom povezanosti između koncentracije adiponektina i podskupina PCOS ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenizma i veće inzulinske rezistencije, to je bila manja koncentracija adiponektina ( $r=-0,353$ ;  $p<0,001$ ). I ovdje je nađena statistički značajna razlika između pojedinih podskupina s lakšim i težim fenotipom PCOS kako slijedi: A:E ( $p<0,004$ ), A:F ( $p<0,006$ ), B:E ( $p<0,002$ ), B:F ( $p<0,004$ ).

**Tablica 12.** Prikaz razlika u koncentracijama leptina između PCOS ispitanica raspodijeljenih u 6 podskupina s obzirom na fenotip, zajedno s p vrijednostima post hoc analize Hochbergovim testom nakon analize varijanci.

	LEPTIN					
	A	B	C	D	E	F
	ITM <25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5	ITM >25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5
N	28	48	12	13	18	11
X	10,25	10,48	10,78	12,39	12,17	13,11
SD	1,27	1,23	1,37	1,83	1,32	1,38
*p	A:B p=1; A:C p=0,986; <b>A:D p&lt;0,001</b> ; <b>A:E p&lt;0,001</b> ; <b>A:F p&lt;0,001</b> ; B:C p=1; <b>B:D p=&lt;0,001</b> ; <b>B:E p=&lt;0,001</b> ; <b>B:F p=&lt;0,001</b> ; C:D p=0,051; C:E p=0,094; <b>C:F p=0,001</b> ; D:E p=1; D:F p=0,953; E:F p=0,648					

ANOVA F(2,124)=13,978; p<0,001; \*Hochbergov test za *post hoc* analizu

Vrijednosti koncentracija leptina u serumu PCOS ispitanica rastu, kako raste težina PCOS fenotipa, što je prikazano na tablici 12. Pronađena je statistički značajna pozitivna povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije leptina i fenotipa PCOS ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenizma i veće inzulinske rezistencije, to je bila veća koncentracija leptina ( $r=0,537$ ;  $p<0,001$ ). Statistička značajnost razlike nađena je među pojedinim podskupinama s lakšim PCOS fenotipom kad su uspoređene s podskupinama težeg PCOS fenotipa kako slijedi: A:D ( $p<0,001$ ), A:E ( $p<0,001$ ), A:F ( $p<0,001$ ), B:D ( $p<0,001$ ), B:E ( $p<0,001$ ), B:F ( $p<0,001$ ), C:F ( $p<0,001$ ).

**Tablica 13.** Prikaz razlika u koncentracijama rezistina između PCOS ispitanica raspodijeljenih u 6 podskupina s obzirom na fenotip, zajedno s p vrijednostima post hoc analize Hochbergovim testom nakon analize varijanci.

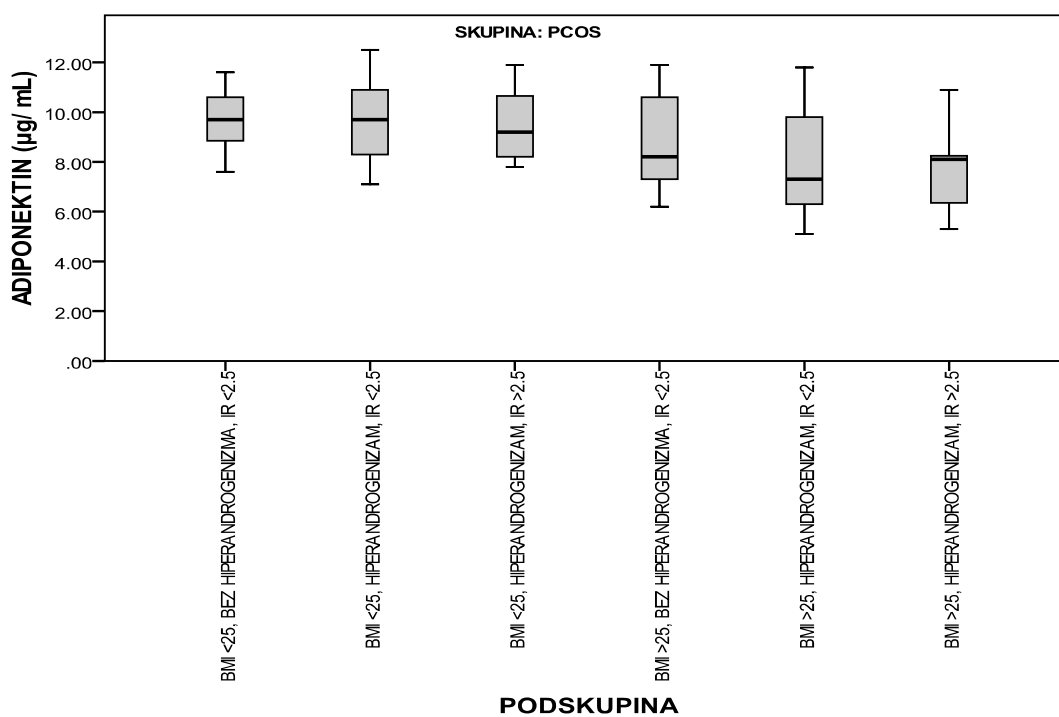
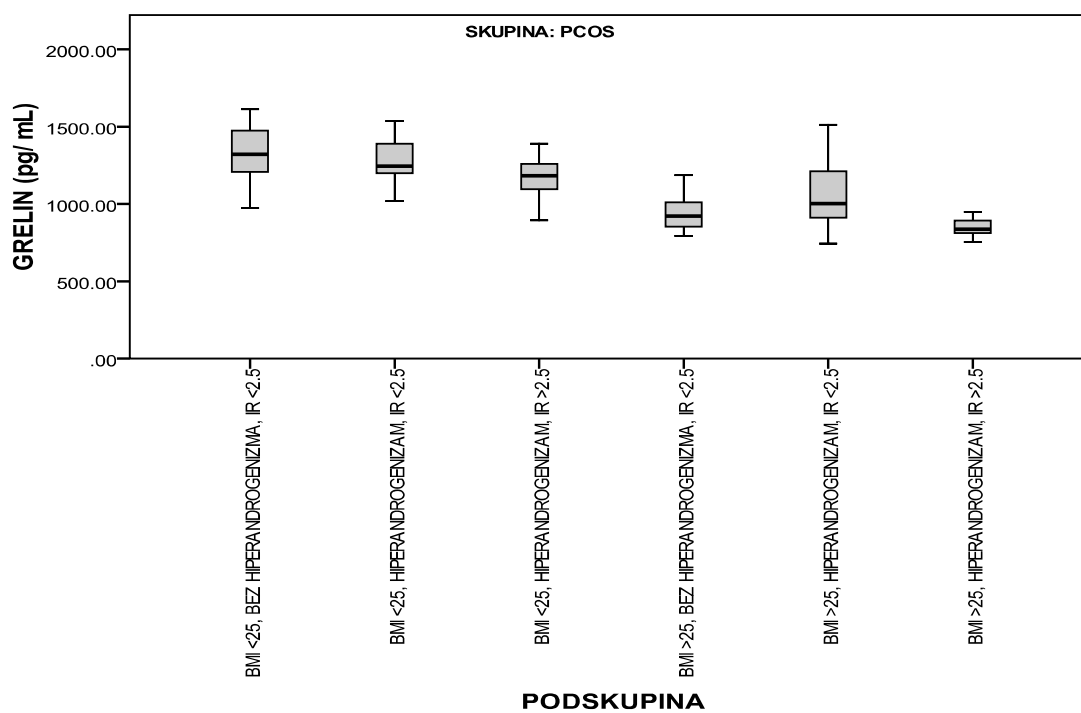
	REZISTIN					
	A	B	C	D	E	F
	ITM <25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM <25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5	ITM >25 BEZ HIPER- ANDROGENIZMA IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR <2,5	ITM >25 HIPERANDRO- GENIZAM IR >2,5
N	28	48	12	13	18	11
X	11,25	11,16	12,29	13,42	13,19	13,82
SD	1,67	1,91	2,23	2,46	2,31	3,07
p	A:B p=1; A:C p=0,916; <b>A:D p=0,042</b> ; <b>A:E p=0,043</b> ; <b>A:F p=0,014</b> ; B:C p=0,783; <b>B:D p=0,013</b> ; <b>B:E p=0,011</b> ; <b>B:F p=0,004</b> ; C:D p=0,951; C:E p=0,986; C:F p=0,735; D:E p=1; D:F p=1; E:F p=1					

ANOVA F(2,124)=6,162; p<0,001; \*Hochbergov test za *post hoc* analizu

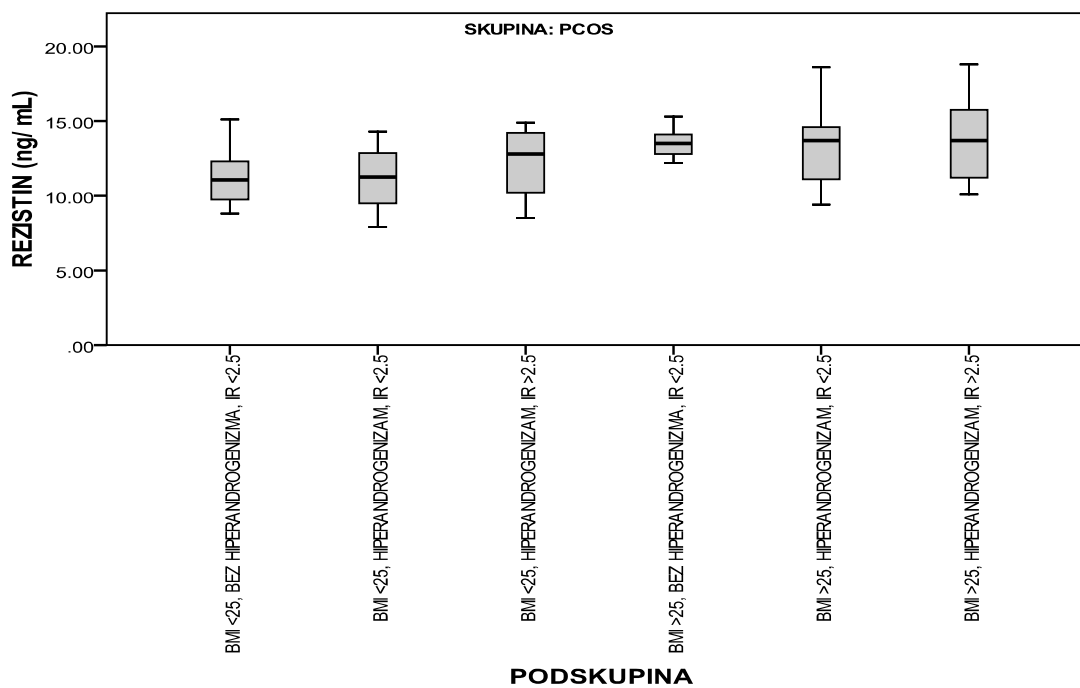
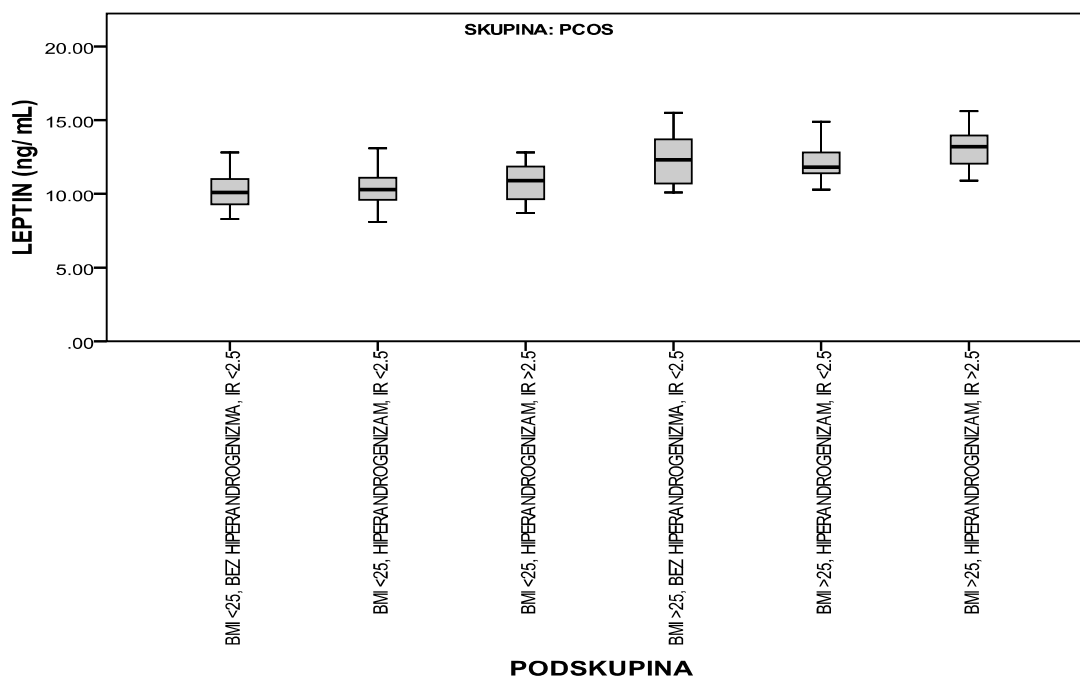
Kao i u slučaju leptina, koncentracija rezistina u serumu PCOS ispitanica raste s porastom težine PCOS fenotipa, što je prikazano na tablici 13. Pronađena je statistički značajna pozitivna povezanost sa srednje velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije rezistina i fenotipa PCOS ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenizma i veće inzulinske rezistencije, to je bila veća koncentracija rezistina ( $r=0,372$ ;  $p<0,001$ ). Statistička značajnost razlike nađena je među pojedinim podskupinama s lakšim PCOS fenotipom kad su uspoređene s podskupinama težeg PCOS fenotipa kako slijedi: A:D ( $p<0,042$ ), A:E ( $p<0,043$ ), A:F ( $p<0,014$ ), B:D ( $p<0,013$ ), B:E ( $p<0,011$ ), B:F ( $p<0,004$ ), .



**Grafikon 4.** Grafički prikaz koncentracija grelina i adiponektina u bolesnica s PCOS s obzirom na težinu fenotipa



**Grafikon 5.** Grafički prikaz koncentracija leptina i rezistina u bolesnica s PCOS s obzirom na težinu fenotipa



**Tablica 14.** Prikaz razlika u koncentracijama adipokina između PCOS ispitanica podskupine „A“ i kontrolne skupine žena normalne težine

		KONTROLNA SKUPINA	PCOS (podskupina „A“)	ZNAKOVITOST RAZLIKE	
		ITM $\leq$ 25 (N=68)	ITM $\leq$ 25, BEZ HIPERANDROGENIZMA IR $<$ 2,5 (N=28)	t	P
GRELIN	X	1778,74	1323,86	11,331	<b>&lt;0,001</b>
	SD	180,67	174,01		
ADIPONEKTIN	X	13,81	9,69	14,171	<b>&lt;0,001</b>
	SD	1,34	1,16		
LEPTIN	X	7,68	10,25	-8,767	<b>&lt;0,001</b>
	SD	1,32	1,27		
REZISTIN	X	8,48	11,25	-8,026	<b>&lt;0,001</b>
	SD	1,17	1,67		

\*Studentov t test nezavisnih uzoraka

Serumske koncentracije grelina i adiponektina bile su značajno niže ( $p < 0,001$ ), a koncentracije leptina i rezistina značajno više ( $p < 0,001$ ) u PCOS ispitanica podskupine „A“ (ITM  $\leq$ 25, bez hiperandrogenizma i bez inzulinske rezistencije) u odnosu na kontrolnu skupinu žena normalne tjelesne težine. Podskupina „A“ PCOS ispitanica ovdje je posebno izdvojena, jer je bilo interesantno istražiti postoje li razlike u koncentracijama adipokina i kod najblažih oblika PCOS fenotipa u usporedbi sa zdravim ispitanicama. Kao što je vidljivo iz tablice 14. razlike postoje i statistički su značajne.

**Tablica 15.** Prikaz razlika u koncentracijama adipokina između PCOS ispitanica podskupine „D“ i kontrolne skupine žena prekomjerne težine.

		KONTROLNA SKUPINA	PCOS (podskupina „D“)	ZNAKOVITOST RAZLIKE	
		ITM >25 (N=17)	ITM ≥25, BEZ HIPERANDROGENIZMA IR <2,5 (N=13)	t	P
GRELIN	X	1319,59	978	6,438	<b>&lt;0,001</b>
	SD	77,55	178,88		
ADIPONEKTIN	X	12,04	8,85	5,128	<b>&lt;0,001</b>
	SD	1,51	1,9		
LEPTIN	X	11,49	12,39	-1,568	0,134
	SD	1,04	1,83		
REZISTIN	X	11,39	13,42	-2,693	<b>0,012</b>
	SD	1,65	2,46		

Serumske koncentracije grelina i adiponektina bile su značajno niže ( $p < 0,001$ ), a koncentracije rezistina značajno više ( $p < 0,001$ ) u PCOS ispitanica podskupine „D“ (ITM  $\geq 25$ , bez hiperandrogenizma i bez inzulinske rezistencije) u odnosu na kontrolnu skupinu žena usklađenu prema indeksu tjelesne mase (tablica 15.). Podskupinu „D“ PCOS ispitanica ovdje smo posebno izdvojili jer nas je zanimalo mijenja li se značajnost razlike koncentracija u pojedinim adipokina kod najblažih oblika PCOS fenotipa kada se povisi ITM. Nije nađena razlika u koncentracijama leptina između ispitivanih skupina pa je očito da se značajnost razlike u slučaju leptina gubi s porastom indeksa tjelesne mase.

#### 5.4 Povezanost koncentracija leptina, adiponektina, grelina i rezistina s debljinom, vrijednostima androgena, inzulinskom rezistencijom te ostalim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika

**Tablica 16.** Povezanost koncentracija adipokina s pokazateljima debljine i razinama pojedinih hormona u bolesnica s PCOS

		GRELIN	ADIPONEKTIN	LEPTIN	REZISTIN
ITM	r	-0,674	-0,560	0,614	0,486
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
OMJER STRUK/ BOKOVI	r	-0,307	-0,123	0,305	0,135
	p	<b>&lt;0,001</b>	0,134	<b>&lt;0,001</b>	0,099
FSH	r	0,111	0,054	-0,052	-0,048
	p	0,174	0,513	0,528	0,559
LH	r	0,188	0,051	-0,223	-0,055
	p	<b>0,021</b>	0,535	<b>0,006</b>	0,501
UKUPNI TESTOSTERON	r	0,013	-0,036	-0,092	-0,020
	p	0,876	0,664	0,262	0,804
SLOBODNI TESTOSTERON	r	-0,038	-0,053	-0,007	-0,045
	p	0,646	0,515	0,931	0,579
SHBG	r	0,136	0,075	-0,136	0,006
	p	0,097	0,362	0,098	0,943

Pearsonovim testom ispitana je povezanost koncentracija adipokina s pokazateljima debljine i razinama pojedinih hormona u bolesnica s PCOS, a rezultati su prikazani u tablici 16.

- pronađena je statistički značajna pozitivna povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije leptina ( $r=0,614$ ,  $p<0,001$ ) i rezistina ( $r=0,486$ ,  $p<0,001$ ) i indeksa tjelesne mase te statistički značajna negativna povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracija adiponektina ( $r=-0,560$ ,  $p<0,001$ ) i grelina ( $r=-0,674$ ,  $p<0,001$ ) i indeksa tjelesne mase u bolesnica s PCOS.
- pronađena je, također, statistički značajna negativna povezanost između koncentracije grelina ( $R=-0,307$ ,  $p<0,001$ ) i omjera struk/bokovi, te statistički značajna pozitivna povezanost između koncentracije leptina ( $r=0,305$ ,  $p<0,001$ ) i omjera struk/bokovi u bolesnica s PCOS.

- pronađena je statistički značajna pozitivna povezanost između koncentracije grelina ( $r=0,188$ ,  $p=0,021$ ) i koncentracije LH te statistički značajna negativna povezanost između koncentracije leptina ( $r=-0,223$ ,  $p=0,006$ ) i koncentracije LH u serumu bolesnica s PCOS.

**Tablica 17.** Povezanost koncentracija adipokina s pokazateljima inzulinske rezistencije u bolesnica s PCOS

		GRELIN	ADIPONEKTIN	LEPTIN	REZISTIN
GUK	r	-0,101	-0,093	0,069	0,060
	p	0,219	0,255	0,398	0,466
INZULIN	r	-0,200	-0,025	0,216	0,134
	p	<b>0,014</b>	0,763	<b>0,008</b>	0,101
GIR	r	0,132	0,087	-0,190	-0,068
	p	0,107	0,287	0,020	0,409
HOMA IR	r	-0,199	-0,034	0,207	0,136
	p	<b>0,014</b>	0,680	<b>0,011</b>	0,097

Pearsonovim testom ispitana je povezanost koncentracija adipokina s pokazateljima inzulinske rezistencije u bolesnica s PCOS, a rezultati su prikazani u tablici 17.

- pronađena je statistički značajna negativna povezanost između koncentracije grelina ( $r=-0,200$ ,  $p=0,014$ ) i koncentracije inzulina te značajna pozitivna povezanost između koncentracije leptina ( $r=0,216$ ,  $p=0,008$ ) i koncentracije inzulina u serumu bolesnica s PCOS.
- pronađena je statistički značajna negativna povezanost između koncentracije grelina ( $r=-0,199$ ,  $p=0,014$ ) i HOMA indeksa inzulinske rezistencije te značajna pozitivna povezanost između koncentracije leptina ( $r=0,207$ ,  $p=0,011$ ) i HOMA indeksa inzulinske rezistencije u bolesnica s PCOS.

**Tablica 18.** Povezanost koncentracija adipokina s biokemijskim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika u bolesnica s PCOS

		GRELIN	ADIPONEKTIN	LEPTIN	REZISTIN
UKUPNI KOLESTEROL	r	-0,342	-0,225	0,325	0,363
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,006</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
TRIGLICERIDI	r	-0,504	-0,311	0,380	0,252
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>
HDL	R	0,311	0,132	-0,182	-0,175
	P	<b>&lt;0,001</b>	0,106	<b>0,025</b>	<b>0,032</b>
LDL	R	-0,243	-0,128	0,206	0,278
	P	<b>0,003</b>	0,116	<b>0,011</b>	<b>0,001</b>
CRP	R	-0,107	-0,026	0,036	0,145
	P	0,189	0,753	0,664	0,075

Pearsonovim testom ispitana je povezanost koncentracija adipokina s biokemijskim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika u bolesnica s PCOS, a rezultati su prikazani u tablici 18.

- pronađena je statistički značajna negativna povezanost između koncentracije grelina ( $r=-0,342$ ,  $p<0,001$ ) i adiponektina ( $r=-0,225$ ,  $p=0,006$ ) i koncentracije ukupnog kolesterola te značajna pozitivna povezanost između koncentracije leptina ( $r=0,325$ ,  $p<0,001$ ) i rezistina ( $r=0,363$ ,  $p<0,001$ ) i koncentracije ukupnog kolesterola u serumu bolesnica s PCOS.
- pronađena je statistički značajna negativna povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije grelina ( $r=-0,504$ ,  $p<0,001$ ) i adiponektina ( $r=0,311$ ,  $p<0,001$ ) i koncentracije triglicerida te značajna pozitivna povezanost između koncentracije leptina ( $r=0,380$ ,  $p<0,001$ ) i rezistina ( $r=0,252$ ,  $p=0,002$ ) i koncentracije triglicerida u serumu bolesnica s PCOS.
- pronađena je statistički značajna pozitivna povezanost između koncentracije grelina ( $r=0,311$ ,  $p<0,001$ ) i koncentracije HDL-a te značajna negativna povezanost između koncentracije leptina ( $r=-0,182$ ,  $p=0,025$ ) i rezistina ( $r=-0,175$ ,  $p=0,032$ ) i koncentracije HDL-a u serumu bolesnica s PCOS.

- pronađena je statistički značajna negativna povezanost između koncentracije grelina ( $r=-0,243$ ,  $p=0,003$ ) i koncentracije LDL-a te značajna pozitivna povezanost između koncentracije leptina ( $r=0,206$ ,  $p=0,011$ ) i rezistina ( $r=0,278$ ,  $p=0,001$ ) i koncentracije LDL-a u serumu bolesnica s PCOS.
- nije nađena statistička značajnost povezanosti između koncentracija adipokina i C-reaktivnog proteina (CRP), premda je u slučaju rezistina uočena tendencija pozitivne povezanosti ( $r=0,145$ ,  $p=0,075$ ).

**Tablica 19.** Utjecaj dijagnoze PCOS, ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu grelina u cirkulaciji svih ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
<b>1. korak</b>				
KONSTANTA	2417,938	94,432		<0,001
ITM	-43,306	3,829	-0,589	<0,001
<b>2. korak</b>				
KONSTANTA	2758,621	102,126		<0,001
ITM	-33,291	2,267	-0,453	<0,001
SKUPINA (KONTR/PCOS)	-459,059	21,222	<b>-0,660</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	-9,327	4,096	-0,069	0,024
OMJER STRUK/ BOKOVI	-357,112	130,072	-0,083	0,007

$R^2=0,35$ ;  $\Delta R^2=0,45$ ( $p<0,001$ )

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, dijagnoze PCOS, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju grelina u cirkulaciji svih žena uključenih u studiju, sve su se varijable pokazale značajnima, no najveći utjecaj je imala pripadnost ispitanice kontrolnoj odnosno PCOS skupini ( $\beta=-0,660$ ,  $p<0,001$ ), kako je prikazano u tablici 19.



**Tablica 20.** Utjecaj dijagnoze PCOS, ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu adiponektina u cirkulaciji svih ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	17,820	0,795		<0,001
ITM	-0,289	0,032	-0,499	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	18,774	0,837		<0,001
ITM	-0,221	0,019	-0,382	<0,001
SKUPINA (KONTR./PCOS)	-4,061	0,174	<b>-0,743</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	0,017	0,034	0,016	0,605
OMJER STRUK/ BOKOVI	-0,188	1,066	-0,006	0,860

$R^2=0,25$ ;  $\Delta R^2=0,53$ ( $p<0,001$ )

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, dijagnoze PCOS, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju adiponektina u cirkulaciji, najveći utjecaj je imala pripadnost ispitanice PCOS skupini ( $\beta=-0,743$ ,  $p<0,001$ ), značajan utjecaj je imao i ITM, dok za HOMA indeks i omjer struk/bokovi nije dokazana značajnost utjecaja, kako je prikazano u tablici 20.

**Tablica 21.** Utjecaj dijagnoze PCOS, ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu leptina u cirkulaciji svih ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	2,410	0,582		<0,001
ITM	0,318	0,024	0,656	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	0,126	0,811		,877
ITM	0,262	0,018	<b>0,540</b>	<b>&lt;0,001</b>
SKUPINA (KONTR./PCOS)	2,318	0,169	0,505	<0,001
HOMA IR	0,072	0,033	0,080	0,028
OMJER STRUK/ BOKOVI	2,619	1,033	0,093	0,012

$R^2=0,43$ ;  $\Delta R^2=0,28$ ( $p<0,001$ )

Metodom standardne linearne regresije, ispitivanjem utjecaja ITM, dijagnoze PCOS, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju leptina u cirkulaciji, sve su se varijable pokazale značajnima, no najveći utjecaj je ovdje imao ITM ( $\beta=0,540$ ,  $p<0,001$ ), potom dijagnoza PCOS ( $\beta=0,505$ ,  $p<0,001$ ), a bitno manji utjecaj omjer struk/bokovi i HOMA indeks, kako je prikazano u tablici 21.

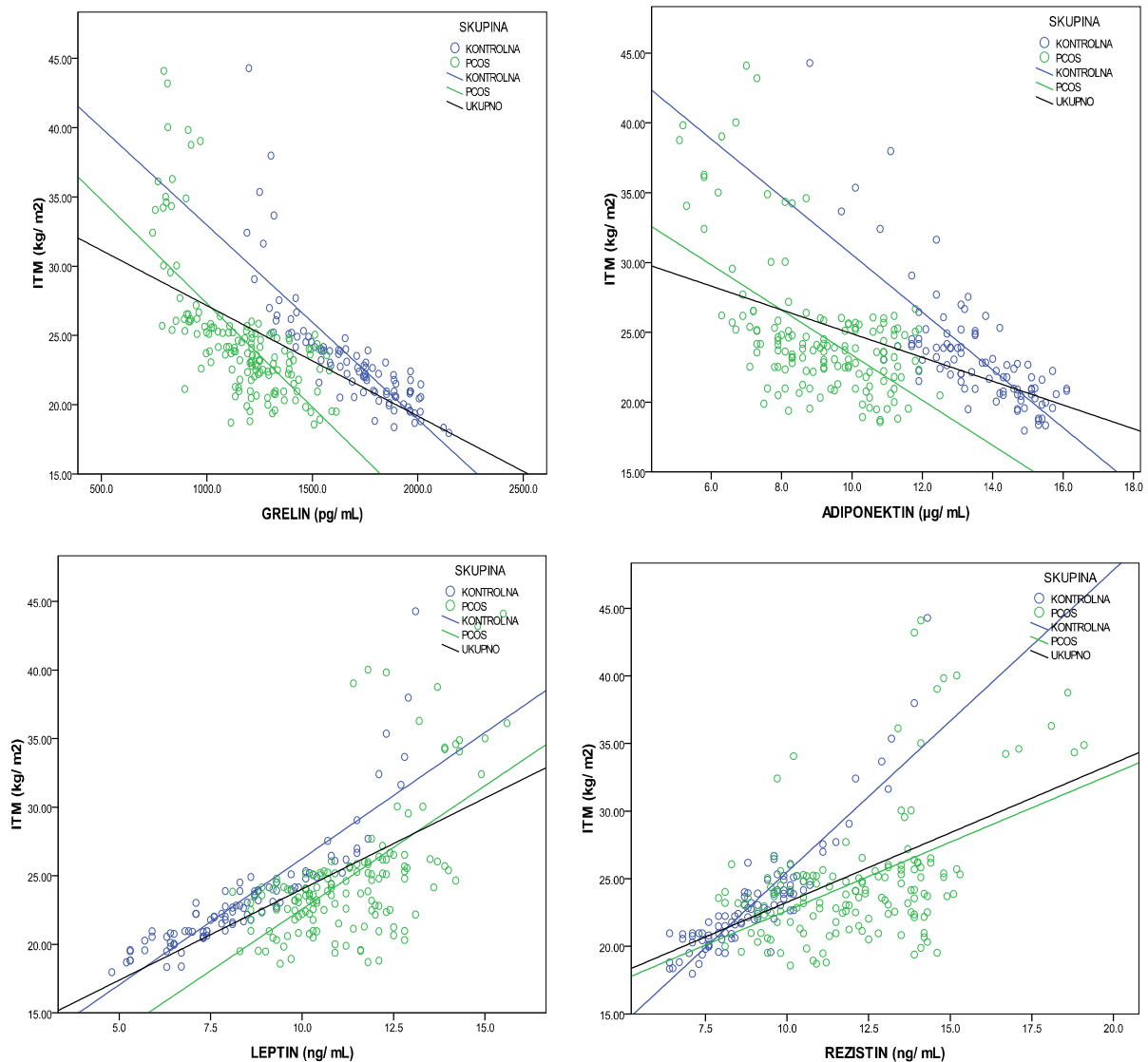
**Tablica 22.** Utjecaj dijagnoze PCOS, ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu rezistina u cirkulaciji svih ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	3,127	0,717		<0,001
ITM	0,321	0,029	0,580	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	2,174	1,099		0,049
ITM	0,272	0,024	<b>0,490</b>	<b>&lt;0,001</b>
SKUPINA (KONTR./PCOS)	2,571	0,228	<b>0,491</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	0,063	0,044	0,061	0,157
OMJER STRUK/ BOKOVI	0,564	1,400	0,017	0,688

$R^2=0,34$ ;  $\Delta R^2=0,25(p<0,001)$

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, dijagnoze PCOS, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju rezistina u cirkulaciji, najveći utjecaj je imala pripadnost ispitanice kontrolnoj odnosno PCOS skupini ( $\beta=0,491$ ;  $p<0,001$ ), a gotovo jednak utjecaj imao je i ITM ( $\beta=0,490$ ;  $p<0,001$ ), dok za HOMA indeks i omjer struk/bokovi nije dokazana značajnost utjecaja, što je vidljivo iz tablice 22.

**Grafikon 6.** Utjecaj indeksa tjelesne mase na razine grelina, adiponektina, leptina i rezistina u ispitanica s PCOS, zdravih žena i u ukupnom uzorku svih ispitanica zajedno.



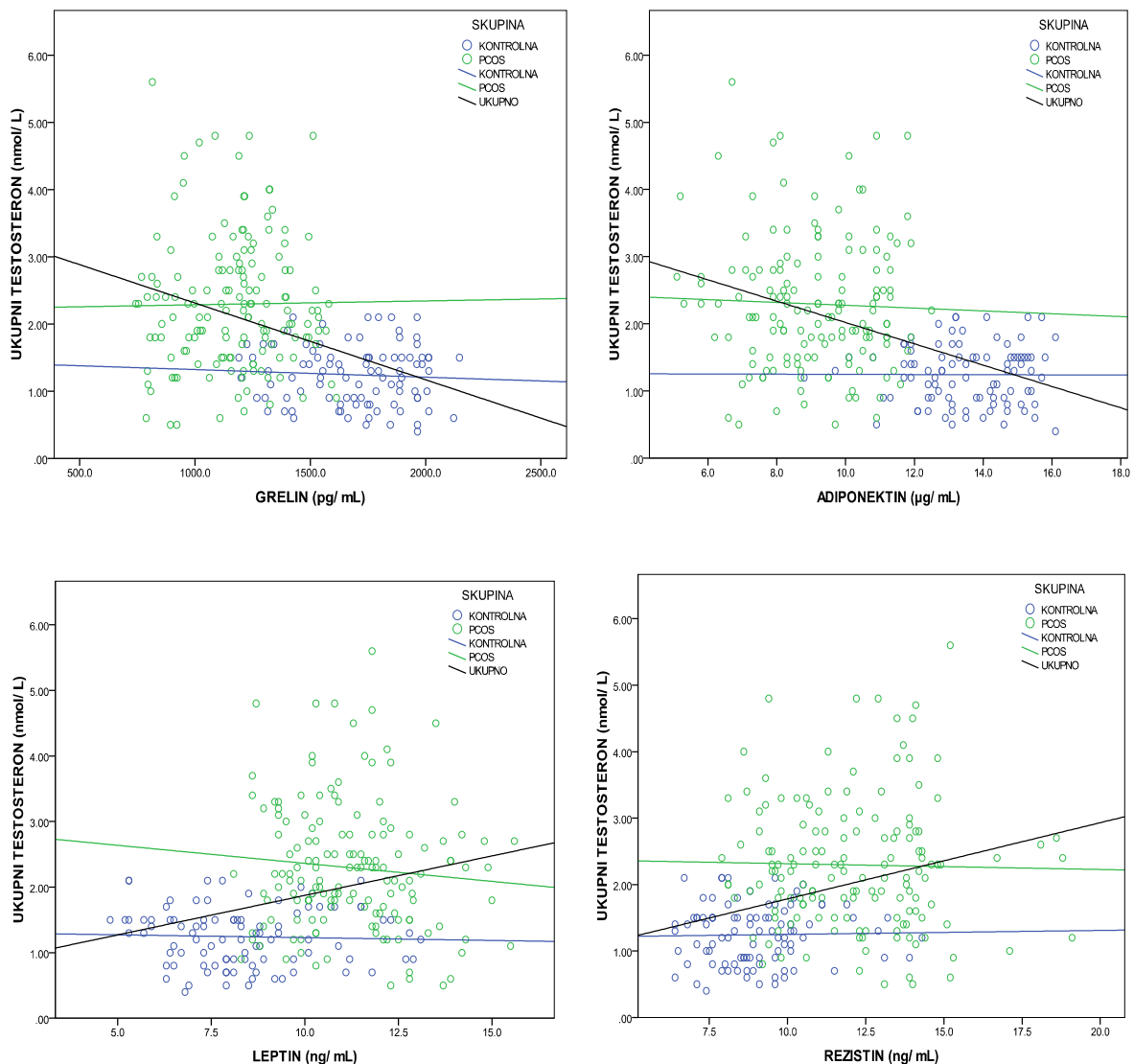
Obzirom na ITM u ukupnom uzorku svih ispitanica zajedno (grafikon 6.) nađena je:

- Statistički značajna negativna povezanost koncentracije grelina ( $r=-0,589$ ;  $p<0,001$ ) i adiponektina ( $r=-0,496$ ;  $p<0,001$ ),
- Statistički značajna pozitivna povezanost koncentracije leptina ( $r=0,649$ ;  $p<0,001$ ) i rezistina ( $r=0,573$ ;  $p<0,001$ ).

Obzirom na ITM u ispitanica s PCOS (grafikon 6.) nađena je:

- Statistički značajna negativna povezanost koncentracije grelina ( $r=-0,674$ ;  $p<0,001$ ) i adiponektina ( $r=-0,560$ ;  $p<0,001$ ),
- Statistički značajna pozitivna povezanost koncentracije leptina ( $r=0,614$ ;  $p<0,001$ ) i rezistina ( $r=0,486$ ;  $p<0,001$ ).

**Grafikon 7.** Utjecaj koncentracije ukupnog testosterona na razine grelina, adiponekina, leptina i rezistina u ispitanica s PCOS, zdravih žena i u ukupnom uzorku svih ispitanica zajedno



Obzirom na koncentraciju ukupnog testosterona u ukupnom uzorku svih ispitanica zajedno nađena je:

- Statistički značajna negativna povezanost koncentracije grelina ( $r=-0,403$ ;  $p<0,001$ ),
- Statistički značajna negativna povezanost koncentracije adiponektina ( $r=-0,443$ ;  $p<0,001$ ),
- Statistički značajna pozitivna povezanost koncentracije leptina ( $r=0,282$ ;  $p<0,001$ ),
- Statistički značajna pozitivna povezanost koncentracije rezistina ( $r=0,307$ ;  $p<0,001$ ).

U ispitanica s PCOS nije nađena značajna povezanost između koncentracija ukupnog testosterona i koncentracija bilo kojeg adipokina kako je prikazano na grafikonu 7.

**Tablica 23.** Utjecaj ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu grelina u cirkulaciji PCOS ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	1917,212	69,287		<0,001
ITM	-30,236	2,742	-0,673	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	2205,469	126,919		<0,001
ITM	-28,072	2,736	<b>-0,625</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	-9,508	4,188	-0,135	0,025
OMJER STRUK/ BOKOVI	-401,357	156,576	-0,156	0,011

$R^2=0,45$ ;  $\Delta R^2=0,04$  ( $p=0,003$ )

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju grelina u cirkulaciji PCOS ispitanica, sve su se varijable pokazale značajnima, no najveći utjecaj je imao indeks tjelesne mase ( $\beta=0,625$ ;  $p<0,001$ ), kako je prikazano u tablici 23. Na koncentraciju adiponektina, međutim, značajan utjecaj imao je jedino indeks tjelesne mase ( $\beta=-0,568$ ;  $p<0,001$ ), dok ostale dvije ispitivane varijable nisu imale utjecaja (tablica 24).

**Tablica 24.** Utjecaj ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu adiponektina u cirkulaciji PCOS ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	13,985	0,595		<0,001
ITM	-0,195	0,024	-0,565	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	13,874	1,134		<0,001
ITM	-0,196	0,024	<b>-0,568</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	0,008	0,037	0,014	0,835
OMJER STRUK/ BOKOVI	0,148	1,399	0,007	0,916

$R^2=0,32$ ;  $\Delta R^2<0,001$  ( $p=0,972$ )

**Tablica 25.** Utjecaj ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu leptina u cirkulaciji PCOS ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	5,927	0,553		<0,001
ITM	0,213	0,022	0,626	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	3,604	1,009		<0,001
ITM	0,195	0,022	<b>0,574</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	0,082	0,033	0,153	0,015
OMJER STRUK/ BOKOVI	3,225	1,245	0,165	0,011

$R^2=0,39$ ;  $\Delta R^2=0,05$ ( $p=0,002$ )

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju leptina cirkulaciji PCOS ispitanica, sve su se varijable pokazale značajnima, no najveći utjecaj je imao indeks tjelesne mase ( $\beta=0,574$ ;  $p<0,001$ ), kako je prikazano u tablici 25.

**Tablica 26.** Utjecaj ITM, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na razinu rezistina u cirkulaciji PCOS ispitanica

VARIJABLA	B	SE B	$\beta$	p
1. korak				
KONSTANTA	6,225	0,865		<0,001
ITM	0,237	0,034	0,495	<0,001
2. korak				
KONSTANTA	5,769	1,639		<0,001
ITM	0,230	0,035	<b>0,482</b>	<b>&lt;0,001</b>
HOMA IR	0,071	0,054	0,095	0,189
OMJER STRUK/ BOKOVI	0,531	2,023	0,019	0,793

$R^2=0,25$ ;  $\Delta R^2=0,009$ ( $p=0,402$ )

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju rezistina u cirkulaciji PCOS ispitanica, značajan utjecaj imao je jedino indeks tjelesne mase ( $\beta=0,482$ ;  $p<0,001$ ), dok ostale dvije ispitivane varijable nisu utjecale na razinu koncentracije rezistina (tablica 26).

## 6.0. RASPRAVA

PCOS je vrlo složen i heterogen sindrom karakteriziran oligo i/ili anovulacijom, hiperandrogenizmom i/ili hiperandrogenemijom te ultrazvučnim nalazom policističnih jajnika. Budući da svaka peta žena reproduktivne dobi boluje od ovog sindroma ovaj se poremećaj smatra najčešćom endokrinopatijom žena ove dobi. Dokazano je da osobe s PCOS imaju povišen rizik nastanka centralne akumulacije masti, inzulinske rezistencije, dijabetesa tipa 2, hiperlipidemije i kardiovaskularnih bolesti. Upravo zbog svoje visoke učestalosti te brojnih metaboličkih poremećaja ovaj se sindrom smatra važnim socio-ekonomskim problemom. Patofiziološki mehanizam koji povezuje simptome PCOS s metaboličkim rizicima nije u potpunosti jasan. Promjene u lučenju hormona masnog tkiva, adipokina, nađene su u osoba s centralnom akumulacijom masti kao i onih s povišenim rizikom nastanka dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti. Čini se da promjene adipokina prethode nastanku navedenih bolesti. Promijenjene vrijednosti adipokina bi stoga, mogle predstavljati neovisne pokazatelje rizika nastanka metaboličkog sindroma. S obzirom da su centralna akumulacija masti, inzulinska rezistencija i povišen rizik metaboličkog sindroma česti pratioci PCOS u ovom su istraživanju uspoređene vrijednosti adipokina u cirkulaciji (adiponektina, grelina, leptina i rezistina) u žena s PCOS s vrijednostima navedenih adipokina u zdravih ispitanica. Dosadašnje studije o poremećenom lučenju adipokina u bolesnica s PCOS daju kontroverzne i nekonzistentne rezultate. Djelomično se to može objasniti heterogenom manifestacijom bolesti, koja se prikazuje čitavim nizom kliničkih i biokemijskih karakteristika, odnosno brojnim podtipovima PCOS. Vrlo vjerojatno se različite vrijednosti adipokina nalaze u različitim etničkim skupinama. U ovoj su studiji istražene razlike u vrijednostima adipokina među različitim podtipovima PCOS. Prema nama dostupnim informacijama ovo je prva studija koja je istražila kretanje vrijednosti adipokina u populaciji žena s PCOS u Republici Hrvatskoj.

### 6.1. Adiponektin i PCOS

U našem istraživanju pronašli smo značajno snižene vrijednosti adiponektina u bolesnica s PCOS u odnosu na zdrave žene. Poznato je da na vrijednosti adiponektina u cirkulaciji utječe debljina. Utjecaj debljine na razine adipokina utvrđen je i u našem istraživanju: žene s povećanom tjelesnom težinom ( $ITM \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) imale su značajno niže vrijednosti adiponektina u plazmi u odnosu na žene normalne tjelesne težine ( $ITM \leq 25$

kg/m<sup>2</sup>) kako u kontrolnoj skupini tako i u skupini žena s PCOS. Ovi su nalazi istovjetni s nalazima prethodno učinjenih studija (40,85). Dodatno, u ovoj je studiji dokazano da su vrijednosti adiponektina snižene u žena s PCOS normalne i prekomjerne težine u odnosu na njihove zdrave usporedne skupine. Navedeni rezultati snažno ukazuju da bolesnice s PCOS imaju snižene vrijednosti adiponektina neovisno o stupnju debljine u odnosu na kontrolnu skupinu. Hipoadiponektinemija kod bolesnica s PCOS nađena je i u studijama iz SAD-a (86), arapskoj (87), talijanskoj (88), španjolskoj (89) i danskoj populaciji (56). Naši rezultati stoje u suprotnosti s rezultatima Oria i suradnika (90). Navedeni autori našli su snižene vrijednosti adiponektina u PCOS bolesnica prekomjerne tjelesne težine, kao i u zdravih žena prekomjerne tjelesne težine u odnosu na bolesnice s PCOS normalne tjelesne težine i zdrave žene normalne tjelesne težine. Moguće je da su navedeni rezultati dobiveni zbog izostanka razlike u distribuciji masnog tkiva između grupa žena uspoređivanih u studiji, budući da su i žene normalne tjelesne težine kao i one s pretjeranom tjelesnom težinom imale srednju vrijednost opsega struka višu od 0.85. Rezultate slične ovima našla je i skupina koja je istraživala grčku populaciju (91). Navedeni istraživači prikazuju snižene vrijednosti adiponektina u pretilih žena s PCOS u odnosu na bolesnice s PCOS normalne tjelesne težine i zdrave žene normalne tjelesne težine. Ovi istraživači u usporedbu nisu uključili zdrave žene povećane tjelesne težine što je nužno da bi se povezao moguć utjecaj između adiponektina, debljine i inzulinske rezistencije. Ardawi MSM i suradnici opisuju značajno niže vrijednosti adiponektina u žena s PCOS i pretilih žena bez ovog sindroma, u usporedbi sa zdravim ženama normalne tjelesne težine iz čega zaključuju kako inzulinska rezistencija sama za sebe ili neka druga metabolička poremetnja svojstvena PCOS-u sudjeluje u regulaciji koncentracije adiponektina u žena s PCOS. (87).

Nakon što smo naše PCOS ispitanice podijelili u šest podskupina prema težini PCOS fenotipa, utvrdili smo kako vrijednosti koncentracija adiponektina u serumu PCOS ispitanica padaju s porastom težine PCOS fenotipa. Pri tom smo našli statistički značajnu negativnu povezanost sa srednje velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije adiponektina i fenotipa PCOS ispitanica ( $r=-0,353$ ;  $p<0,001$ ), odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenemije, i veće inzulinske rezistencije, to je bila manja koncentracija adiponektina. Statistička značajnost razlike nađena je i među pojedinim podskupinama s lakšim PCOS fenotipom kad su uspoređene s podskupinama težeg PCOS fenotipa kao što je ranije prikazano u rezultatima naše studije.

Zanimalo nas je, iako to primarno nije bio jedan od ciljeva ovog istraživanja, postoje li razlike u razinama adiponektina između najblažih fenotipova PCOS i zdravih kontrola iste



težinske skupine. Stoga smo usporedili bolesnice s dijagnozom PCOS, urednim vrijednostima androgena i inzulina u cirkulaciji i normalnom težinom (podskupina „A“), sa zdravim ispitanicama normalne težine i našli značajno niže vrijednosti adiponektina u skupini žena s PCOS ( $t=14,171$ ;  $p<0,001$ ). Značajnu razliku utvrdili smo i kad smo usporedili žene prekomjerne tjelesne težine istog PCOS fenotipa (podskupina „D“) sa zdravim ispitanicama prekomjerne težine ( $t=5,128$ ;  $p<0,001$ ). Ovo je vrlo interesantno zapažanje, budući se ovdje radi o pacijenticama s dijagnozom PCOS bez hiperandrogenemije i hiperinzulinemije, samo s ultrazvučnim nalazom policističnih jajnika i poremećajem ciklusa, dakle skupini koja je obuhvaćena jedino Rotterdamskim kriterijem, a po nekim drugim kriterijima vjerojatno ne bi bila označena kao PCOS. No ipak, ove bolesnice imaju značajno različite vrijednosti ne samo adiponektina, već kako je pokazano u rezultatima naše studije, gotovo svih ispitivanih adipokina kad se usporede sa zdravim kontrolama iste težinske skupine. Za pretpostaviti je dakle, da postoji neki čimbenik neovisan o produkciji androgena i inzulinskoj rezistenciji, a ipak svojstven dijagnozi PCOS koji utječe na promijenjene razine adipokina u ovih žena.

Mnoge studije ističu značaj abdominalnog masnog tkiva u sekreciji adiponektina. Slično su pokazali i poljski autori koji zaključuju da su najbolji prediktori koncentracije adiponektina WHR (engl. *waist to hip ratio* – omjer struk/bokovi), FAI (engl. *free androgen index* – slobodni indeks androgena) i intolerancija glukoze (92). Na osnovu rezultata ovog rada može se zaključiti da je abdominalna distribucija masti povezana s hipoadiponektinemijom. Stoga se može spekulirati da hipoadiponektinemija može doprinijeti nastanku smanjenje osjetljivosti na inzulin kod bolesnica s PCOS neovisno o ITM.

U naših bolesnica s PCOS dokazana je snažna obrnuta korelacija između vrijednosti adiponektina i ITM ( $r=-0,560$ ;  $p<0,001$ ). Nismo, međutim, dokazali povezanost između razine adiponektina i omjera struk/bokovi (engl. *waist to hip ratio* – WHR). Na prvi pogled ovo može izgledati neobično, no analizirajući udio pretilih PCOS bolesnica u našem istraživanju možemo uočiti da je gotovo dvije trećine ovih ispitanica normalne težine, a svega jedna trećina pretilih. Očito je da debljina u PCOS žena naše populacije nije dominantno obilježje. Vrlo je vjerojatno, također, da postoje razlike i u rasporedu masnog tkiva između žena naše populacije (mediteranski tip) i žena nekih drugih europskih zemalja, odnosno američkog kontinenta u kojih je abdominalna debljina češće zastupljena.

Zna se da hipoadiponektinemija može dovesti do inzulinske rezistencije u žena s PCOS, budući adiponektin ima značajan učinak na povećanje inzulinske osjetljivosti u tkivima. Premda postoje brojna izvješća o povezanosti razine adiponektina s pokazateljima inzulinske rezistencije (56,69,86) u naših PCOS ispitanica nismo uspjeli dokazati korelaciju

nitri s jednim od ovih pokazatelja (GUK, inzulin, GIR, HOMA indeks). Isto tako, nismo našli povezanost razine adiponektina nitri s koncentracijama ukupnog i slobodnog testosterona u serumu PCOS ispitanica što je u skladu s radovima nekih drugih autora (70). Postoje, međutim, druga izvješća koja upućuju na snažnu pozitivnu povezanost između koncentracija adiponektina i testosterona u serumu PCOS bolesnica (56,87,93). Ipak, ne treba zaboraviti kako je u našem istraživanju utvrđena značajna negativna povezanost između koncentracije adiponektina i težine PCOS fenotipa ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenemije i inzulinske rezistencije, to je bila manja koncentracija adiponektina, što posredno ipak ukazuje na njihovu međusobnu povezanost. Moguće je, stoga, da bi na većem uzorku ispitanica ova korelacija ipak bila vidljiva.

Poznato je da adiponektin ima antiaterogeni, antiinflamatorni i andijabetički učinak. Niske vrijednosti adiponektina nađene su u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom, koronarnom bolešću i dijabetesom tipa 2. U našem istraživanju snižene su vrijednosti adiponektina nađene u bolesnica s PCOS neovisno o ITM. Isto tako, našli smo značajnu povezanost razine adiponektina i ukupnog kolesterola kao i triglicerida u serumu PCOS ispitanica. Budući da niske vrijednosti adiponektina mogu služiti kao prediktor progresije prema dijabetesu tipa 2 i kardiovaskularnim bolestima kod žena, određivanje vrijednosti ovog adipokina moglo bi pomoći u identifikaciji onih žena s PCOS koje imaju posebno povišen rizik nastanka ovih bolesti te ukazivati na nužno praćenje i raniji početak liječenja. Odgovor je li hipoadiponektinemija rezultat interakcije između IR i hiperandrogenemije ili intrinzična značajka PCOS neophodan je da bi se zaključilo o adiponektinu kao potencijalnom biomarkeru izraženosti PCOS.

U tom smislu, provjerili smo prediktivni utjecaj dijagnoze PCOS, ITM-a, omjera struk/bokovi i HOMA indeksa na koncentraciju adiponektina u cirkulaciji svih ispitanica i dokazali najveći utjecaj same dijagnoze PCOS ( $\beta=-0,743$ ,  $p<0,001$ ). Značajan utjecaj (ali znatno manji) imao je i indeks tjelesne mase, dok za HOMA indeks i omjer struk/bokovi nije dokazana značajnost utjecaja. Prisjetimo li se sada kako smo u našem istraživanju našli značajno niže vrijednosti adiponektina čak i u skupini PCOS ispitanica bez hiperandrogenemije i inzulinske rezistencije kada smo ih usporedili sa zdravim ispitanicama iste težinske skupine, možemo zaključiti kako je adiponektin očito usko vezan uz dijagnozu PCOS te bi se mogao koristiti kao biomarker izraženosti sindroma.

## 6.2. Leptin i PCOS

Obzirom na povezanost leptina s energetsom ravnotežom i reprodukcijom endokrinom osovinom, brojne studije su se do danas bavile istraživanjem razine leptina u serumu u žena s PCOS, budući je ovaj sindrom često združen s pretilošću i reprodukcijom poteškoćama. Pritom su ove studije, kao što je ranije spomenuto dale različite rezultate. Neke su studije pokazale da su vrijednosti leptina više kod žena s PCOS u odnosu na kontrolnu skupinu iste tjelesne težine (31,32), dočim su druge pokazale da razlike u vrijednostima leptina ne postoje između bolesnica s PCOS i normoovulatornih žena te da njegove vrijednosti odražavaju stupanj debljine, a ne hiperinzulinemije (33-35). Naše istraživanje pridonosi ovoj raspravi, a dobiveni rezultati govore u prilog kako razina leptina u serumu pacijentica s PCOS sigurno nije rezultat samo povećane tjelesne mase, već i čimbenika specifičnih samo za PCOS. Ovo je najjasnije vidljivo iz usporedbe žena s PCOS prekomjerne težine sa zdravim ispitanicama prekomjerne težine gdje postoji statistička značajnost u smislu povišenih razina leptina u ispitanica ( $p=0,007$ ). Značajno više vrijednosti leptina nađene su i u ispitanica normalne težine u odnosu na kontrolnu skupinu normalne težine ( $p<0,001$ ). Očekivano, razine leptina u serumu značajno su rasle u PCOS ispitanica prekomjerne tjelesne težine u usporedbi s PCOS ispitanicama normalne težine, iz čega zaključujemo kako debljina pogoršava hiperleptinemiju i unutar skupine žena sa sindromom.

Kada smo naše ispitanice podijelili u podskupine prema težini fenotipa PCOS uočili smo kako vrijednosti koncentracija leptina u serumu PCOS ispitanica rastu s porastom težine PCOS fenotipa. Pri tom smo našli statistički značajnu pozitivnu povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije leptina i fenotipa PCOS ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenemije, i veće inzulinske rezistencije, to je bila veća koncentracija leptina ( $r=0,537$ ;  $p<0,001$ ). Statistička značajnost razlike nađena je i među pojedinim podskupinama s lakšim PCOS fenotipom kad su uspoređene s podskupinama težeg PCOS fenotipa kao što je ranije prikazano u rezultatima naše studije.

Među ženama s dijagnozom PCOS, debljina je očito ključni čimbenik koji utječe na razinu leptina, no bilo je interesantno istražiti postoje li razlike u razinama leptina između najblažih fenotipova PCOS i zdravih kontrola iste težinske skupine. Tako smo usporedili bolesnice s dijagnozom PCOS, urednim vrijednostima androgena i inzulina u cirkulaciji i normalnom težinom (podskupina „A“), sa zdravim ispitanicama normalne težine i našli

značajno više vrijednosti leptina u skupini žena s PCOS ( $t=-8,767$ ,  $p<0,001$ ). Kad smo usporedili žene prekomjerne tjelesne težine istog PCOS fenotipa (podskupina „D“) sa zdravim ispitanicama prekomjerne težine, ova razlika u razini leptina u potpunosti se izgubila ( $t=1,568$ ,  $p=0,134$ ). Stoga možemo zaključiti da je leptin ipak prvenstveno čimbenik debljine, iako na njegove razine nedvojbeno utječu i čimbenici svojstveni dijagnozi PCOS. Odnosno, u nižim težinskim skupinama ( $ITM \leq 25$ ) na razinu leptina više će utjecaja imati sama dijagnoza PCOS, dok će u težih pacijentica ( $ITM \geq 25$ ) više utjecati debljina. Gotovo identičan zaključak objavljuju na temelju rezultata svog istraživanja Remsberg i suradnici (34) koji u najlakšoj skupini ispitanica ( $ITM \leq 25$ ) također nalaze značajnu razliku razine leptina između PCOS ispitanica i zdravih kontrola, dok se s porastom ITM razlika više ne uočava. Najviše razine leptina u serumu, dakle, možemo očekivati u pretilih žena s dijagnozom PCOS. Ako pritom, uzmemo u obzir činjenicu kako leptin može služiti kao neovisan prediktor povišenog kardiovaskularnog rizika (37) onda je jasno da je upravo ova skupina žena izložena najvišem riziku pojave kardiovaskularnih bolesti u kasnijem životu.

U našem istraživanju ustanovljena je statistički značajna povezanost koncentracije leptina u serumu PCOS bolesnica s indeksom tjelesne mase i omjerom struk/bokovi, odnosno pokazateljima debljine što nije novost, jer su slična izvješća objavljena od strane brojnih autora (33,34). Remsberg i suradnici (34) navode kako potkožno masno tkivo u abdominalnoj regiji može biti najbolji prediktor razine cirkulirajućeg leptina, barem u žena s PCOS. Pozitivnu korelaciju između leptina i opsega struka nalaze i drugi istraživači (94). U naših ispitanica, međutim, nismo našli razliku u omjeru struk/bokovi između bolesnica s PCOS i zdravih žena, niti onda kada smo ih uskladili prema indeksu tjelesne mase (PCOS prekomjerne težine nasuprot zdravim ženama prekomjerne težine). Pretpostavljamo, stoga, da je raspored masnog tkiva u našoj populaciji žena, kako zdravih tako i onih sa sindromom, ipak drugačiji od američke populacije ili populacije nekih drugih europskih naroda te ne može služiti u navedenu svrhu.

Od ranije je poznata sposobnost testosterona da suprimira sintezu leptina, kao što se zna i da je estrogenu mogu poticati. Naši rezultati, međutim, nisu pokazali povezanost razine serumskog leptina i testosterona u žena s PCOS, nasuprot nekim ranije objavljenim studijama koje ovu povezanost opisuju (31,35). S druge strane, istraživanja Remsberg i Pehlivanova (34,94) stoje u korelaciji s našim rezultatima.

U naših ispitanica s PCOS dokazali smo statistički značajnu pozitivnu korelaciju između razine serumskog leptina i pokazatelja inzulinske rezistencije, odnosno koncentracije inzulina ( $r=0,216$ ,  $p=0,008$ ) i HOMA indeksa ( $r=0,207$ ,  $p=0,011$ ). Ovi su rezultati na tragu

onih objavljenih u studiji Pehlivanova i suradnika (94) koji nalaze najčvršću povezanost između razine leptina i HOMA indeksa, čak i po isključenju utjecaja ITM, opsega struka i omjera struk/bokovi.

U novije se vrijeme govori da leptin može imati ulogu u nastanku kardiovaskularnih bolesti. Leptin se povezuje s poremećajem u fibrinolizi, hipertenzijom i kalcifikacijom vaskularnih stanica (36). Studije su pokazale da su visoke vrijednosti leptina neovisan pokazatelj povišenog rizika nastanka kardiovaskularnih bolesti kod bolesnica s PCOS (37). U naših smo ispitanica našli značajnu povezanost razine serumskog leptina s koncentracijama ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-a i LDL-a, dakle biokemijskim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika, čime se priključujemo rezultatima ovih autora. Obzirom na visoku statističku značajnost ove povezanosti, mišljenja smo da bi određivanje razine leptina moglo biti od koristi u procjeni kardiovaskularnog rizika u bolesnica s PCOS.

Kada smo analizirali koeficijente utjecaja pojedinih parametara na razinu leptina u cirkulaciji svih ispitanica, kako bismo dobili redoslijed jačine utjecaja ovih parametara, ustanovili smo najjači utjecaj indeksa tjelesne mase ( $\beta=0,540$ ;  $p<0,001$ ), potom dijagnoze PCOS ( $\beta=0,505$ ;  $p<0,001$ ), dok su omjer struk/bokovi i HOMA indeks također imali utjecaja, ali znatno manje od prva dva parametra. Analizirajući potom koeficijente utjecaja istih parametara na razinu leptina u cirkulaciji žena s PCOS, našli smo nedvojbeno najjači utjecaj indeksa tjelesne mase, dok su omjer struk/bokovi i HOMA indeks također imali značajan utjecaj, ali znatno manji.

Vidljivo je kako se kroz sve naše rezultate koji se odnose na razinu leptina u cirkulaciji žena s PCOS, provlači uska povezanost s debljinom, odnosno indeksom tjelesne mase. Ipak, neupitan je i utjecaj same dijagnoze. Vjerojatno je da se jačina utjecaja jednog ili drugog čimbenika mijenja u ovisnosti o debljini te će tako u mršavijih žena na razinu leptina više utjecati sama dijagnoza PCOS, dok će u pretilih žena više utjecati debljina. Jasno je dakle, da na razinu serumskog leptina utječu i debljina i dijagnoza PCOS „per se“ i to podjednako pa je leptin od svih adipokina uključenih u naše istraživanje, možda najmanje specifičan za dijagnozu PCOS.

### **6.3. Rezistin i PCOS**

Usprkos početnim obećavajućim rezultatima o rezistinu kao poveznici između debljine i dijabetesa, kasnija istraživanja na tom polju bila su prilično zbunjujuća. Danas se zna kako

postoje razlike u lokaciji gena na kromosomima i razlike u mjestima sinteze ovog adipokina među pojedinim vrstama. Stoga se saznanja iz studija na životinjama, najčešće glodavcima, moraju razmatrati vrlo oprezno, jer u ljudi je mehanizam djelovanja rezistina na metabolizam glukoze vrlo vjerojatno drugačiji. Nije velik broj studija koje su istraživale ulogu rezistina kod bolesnica s PCOS. U nekim je studijama pokazano da su vrijednosti rezistina povišene kod bolesnica s PCOS neovisno o inzulinskoj rezistenciji i ITM (89,91,95), dok su druge pokazale oprečne rezultate (96,97). Seow i suradnici (96) pokazali su slične razine rezistina u serumu žena s PCOS i zdravih ispitanica, premda je razina mRNA za rezistin bila dvostruko veća u adipocitima žena s PCOS u usporedbi s kontrolnom skupinom. U drugoj studiji, Carmina i suradnici (97) također ne nalaze razlike u razinama rezistina između pretilih žena s PCOS i zdravih žena normalne težine. Nasuprot tome, Panidis i suradnici (95) nalaze više razine serumskog rezistina u pretilih PCOS pacijentica nego u kontrolnoj skupini. Kontrolnu skupinu su, međutim, u ovom istraživanju sačinjavale žene normalne težine pa je ovakva usporedba neprikladna. Ovi autori navode i značajnu pozitivnu korelaciju cirkulirajućeg rezistina i ITM. Skupina španjolskih autora (89) izvješćuje o porastu koncentracije rezistina u serumu u PCOS žena prekomjerne tjelesne težine i pretilih u usporedbi s PCOS ženama uredne težine.

U našem smo istraživanju najprije usporedili žene s PCOS prekomjerne težine sa zdravim ispitanicama prekomjerne težine i našli značajno više razine serumskog rezistina u prvoj skupini žena. Značajno više vrijednosti rezistina nađene su i u ispitanica normalne težine u odnosu na kontrolnu skupinu normalne težine. Ovi su rezultati slični onima u studiji turskih kolega (69) koji su također našli povišene vrijednosti rezistina u žena s PCOS u usporedbi sa zdravim ženama iste dobi i ITM. Slično kao i kod leptina i ovdje smo našli značajno više razine rezistina u PCOS ispitanica prekomjerne tjelesne težine u usporedbi s PCOS ispitanicama normalne težine, iz čega zaključujemo kako i u slučaju rezistina debljina ima utjecaja unutar skupine žena sa sindromom. PCOS bolesnice prekomjerne tjelesne težine imale su i značajno viši HOMA indeks kao i razinu inzulina u serumu. Ovo je u skladu s dosadašnjim saznanjima o interakciji između razine serumskog rezistina, dijabetesa tipa 2 i debljine.

Slično kao i u slučaju leptina, kada smo naše ispitanice podijelili u podskupine prema težini PCOS fenotipa, utvrdili smo porast vrijednosti koncentracija rezistina u serumu PCOS ispitanica s porastom težine PCOS fenotipa. Pri tom smo našli statistički značajnu pozitivnu povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije rezistina i fenotipa PCOS ispitanica, odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenemije i veće inzulinske rezistencije, to je bila veća koncentracija rezistina

( $r=0,372$ ;  $p<0,001$ ). Statistička značajnost razlike nađena je i među pojedinim podskupinama s lakšim PCOS fenotipom kad su uspoređene s podskupinama težeg PCOS fenotipa kao što je već ranije prikazano.

Kada smo, zatim, usporedili bolesnice s dijagnozom PCOS, urednim vrijednostima androgena i inzulina u cirkulaciji i normalnom težinom (podskupina „A“), sa zdravim ispitanicama normalne težine našli smo značajno više vrijednosti rezistina u skupini žena s PCOS ( $t=-8,026$ ;  $p<0,001$ ). Značajnu razliku utvrdili smo i kad smo usporedili žene prekomjerne tjelesne težine istog PCOS fenotipa (podskupina „D“) sa zdravim ispitanicama prekomjerne težine ( $t=-2,693$ ;  $p=0,012$ ). Tako smo i u slučaju rezistina dokazali postojanje značajnih razlika između ispitanica s najblažim PCOS fenotipom i zdravih kontrola iste težinske skupine.

U našem istraživanju ustanovljena je statistički značajna povezanost koncentracije rezistina u serumu s indeksom tjelesne mase ( $r=0,486$ ;  $p<0,001$ ), ali ne i s omjerom struk/bokovi. Ovakvo zapažanje na tragu je nekih ranije objavljenih studija (60,98,99), no postoje i drugačija izvješća. Yilmaz i suradnici (69) su tako utvrdili razliku između pretilih i normalno teških PCOS pacijentica samo za razine adiponektina, ali ne i rezistina.

Izvješća o ulozi rezistina u nastanku inzulinske rezistencije i njegovom utjecaju na razine androgenih hormona u PCOS bolesnica, također su kontroverzna. Lewandowski i suradnici (100) nisu pronašli povezanost između koncentracija rezistina i adiponektina i inzulinske rezistencije, razina lipida i androgenih hormona u serumu bolesnica s PCOS. Slična su zapažanja i nekih drugih autora (69,88). Munir i suradnici (67) ipak nalaze korelaciju između serumskog rezistina i slobodnog testosterona u PCOS bolesnica. U njihovoj studiji pokazano je kako rezistin stimulira aktivnost 17- $\alpha$  hidroksilaze u nazočnosti forzolina ili inzulina u kulturi humanih teka stanica. Autori navode kako bi povišene razine rezistina na taj način mogle povećati lučenje androgenih hormona u jajniku. U našem istraživanju nismo dokazali povezanost razine rezistina s bilo kojim pokazateljem inzulinske rezistencije kao niti s razinama androgenih hormona u žena s PCOS što je u skladu s većinom ranije objavljenih studija.

Nekoliko je kliničkih i epidemioloških studija pokazalo povezanost između vrijednosti rezistina i proinflatornih citokina koji predstavljaju rizične čimbenike za nastanak kardiovaskularnih bolesti čak i kod žena s normalnom tjelesnom težinom (71-73). U našoj studiji utvrdili smo značajnu korelaciju između razine rezistina u serumu i koncentracija kolesterola, triglicerida, HDL-a i LDL-a u serumu PCOS bolesnica. Povezanost nije utvrđena jedino s visoko osjetljivim CRP. Budući smo već ranije utvrdili značajno više razine rezistina

u serumu pacijentica s PCOS te dokazali njegovu snažnu korelaciju s pokazateljima kardiovaskularnog rizika, možemo zaključiti kako žene s PCOS imaju povišen rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti i metaboličkog sindroma u budućnosti te da razine serumskog rezistina mogu biti jedan od pokazatelja ovog rizika.

Analizom jačine utjecaja pojedinih parametara na razinu rezistina u čitavom uzorku ispitanica, utvrdili smo najjači utjecaj same dijagnoze PCOS ( $\beta=0,491$ ;  $p<0,001$ ), a gotovo jednak utjecaj imao je i indeks tjelesne mase ( $\beta=0,490$ ;  $p<0,001$ ), dok za ostale ispitivane parametre (HOMA indeks i omjer struk/bokovi) nije dokazana značajnost utjecaja. Unutar skupine PCOS ispitanica najjači utjecaj imao je ITM ( $\beta=0,482$ ;  $p<0,001$ ), dok ostale dvije ispitivane varijable nisu utjecale na razinu koncentracije rezistina.

#### **6.4. Grelin i PCOS**

Grelin je nedavno otkriven peptidni hormon sa značajnim učincima na energetske ravnoteže, uzimanje hrane i regulaciju tjelesne težine (101). Ovaj peptid se temeljno izlučuje u endokrinim žlijezdama želuca pa ga stoga ne možemo zvati adipokinom, no zbog svojih potencijalnih učinaka na metabolizam glukoze, moguću povezanost s razinama androgenih hormona kao i rizikom nastanka kardiovaskularnih bolesti, možemo zaključiti kako su njegove osobine vrlo slične osobinama i učincima nekih adipokina. Niske vrijednosti grelina u serumu nađene su u stanjima pozitivne energetske ravnoteže, poput debljine (102,103), a sukladno tome, studije izvješćuju o povezanosti niskih vrijednosti grelina s inzulinskom rezistencijom i dijabetesom (104). Izvješća o vrijednostima grelina u žena s PCOS nisu brojna i prilično su zbunjujuća: opisane su snižene (54), kao i povišene (55) koncentracije, dok drugi istraživači nisu našli značajne razlike između žena sa sindromom i zdravih kontrola (52). Ovakva nekonzistentnost rezultata u studijama koje su istraživale vrijednosti grelina u serumu bolesnica s PCOS, moguće je uzrokovana velikom heterogenošću kliničkih i parakliničkih osobitosti ovog sindroma. Ukoliko koristimo Roterdamski kriterij, dijagnozu PCOS možemo postaviti i u žena bez kliničkih i biokemijskih znakova hiperandrogenizma. U našem smo istraživanju zato, pokušali utvrditi postoje li razlike u serumskim razinama grelina u različitim podtipova PCOS obzirom na težinu fenotipa odnosno nazočnost hiperandrogenemije, inzulinske rezistencije ili debljine.

U ovoj studiji nađene su značajno snižene vrijednosti grelina u bolesnica s PCOS u odnosu na zdrave žene što je u skladu s nekim ranije objavljenim studijama (54,56). Iz



dosadašnjih izvješća poznato je da na vrijednosti grelina u cirkulaciji utječu stanja pozitivnog energetskeg balansa, odnosno debljina (103,104). Utjecaj debljine na razine grelina utvrđen je i u našem istraživanju: žene s povećanom tjelesnom težinom (ITM  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>) imale su značajno niže vrijednosti grelina u plazmi u odnosu na žene normalne tjelesne težine (ITM  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup>) kako u žena s PCOS, tako i u zdravih ispitanica. Nadalje, dokazali smo da su vrijednosti grelina snižene u žena s PCOS normalne i prekomjerne težine u usporedbi sa zdravim ženama koje smo uskladili prema tjelesnoj težini s ispitanicama. Iz navedenog možemo zaključiti kako bolesnice s PCOS imaju snižene vrijednosti grelina neovisno o stupnju debljine u odnosu na kontrolnu skupinu.

Nakon što smo naše PCOS ispitanice podijelili u šest podskupina prema težini PCOS fenotipa, utvrdili smo kako vrijednosti koncentracija grelina u serumu PCOS ispitanica padaju s porastom težine PCOS fenotipa. Pri tom smo našli statistički značajnu negativnu povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracije grelina i fenotipa PCOS ispitanica ( $r=-0,623$ ;  $p<0,001$ ), odnosno što je ispitanica imala više čimbenika rizika poput većeg ITM-a, hiperandrogenemije i veće inzulinske rezistencije, to je bila manja koncentracija grelina. Statistička značajnost razlike nađena je i među pojedinim podskupinama s lakšim PCOS fenotipom kad su uspoređene s podskupinama težeg PCOS fenotipa.

I ovdje smo usporedili bolesnice s dijagnozom PCOS, bez hiperandrogenemije, bez povišene inzulinske rezistencije, a s normalnom težinom (podskupina „A“), sa zdravim ispitanicama normalne težine i našli značajno niže vrijednosti grelina u skupini žena s PCOS ( $t=11,331$ ;  $p<0,001$ ). Značajno niže vrijednosti grelina u serumu utvrdili smo i onda kad smo usporedili PCOS ispitanice bez hiperandrogenemije i povišene inzulinske rezistencije, a s prekomjernom tjelesnom težinom (podskupina „D“) sa zdravim ispitanicama prekomjerne težine ( $t=6,438$ ;  $p<0,001$ ). Navedeni rezultati svakako govore u prilog čvrste povezanosti grelina i same dijagnoze PCOS, neovisne o nazočnosti hiperandrogenemije ili inzulinske rezistencije, premda će nazočnost ovih čimbenika dodatno utjecati na snižene vrijednosti grelina u cirkulaciji žena sa sindromom. Nadalje, iz ovih opažanja proizlazi i zaključak o opravdanosti korištenja Roterdamskog kriterija za postavljanje dijagnoze PCOS, jer je jasno kako i u žena u kojih se sindrom manifestira samo policističnim izgledom jajnika i anovulacijskim ciklusima, postoji poremećaj u lučenju grelina i adipokina, što upućuje na postojanje patološke regulacije koja proizlazi iz samog PCOS.

U naših ispitanica s PCOS dokazali smo snažnu obrnutu korelaciju razine grelina s pokazateljima debljine. Tako je pronađena značajna negativna povezanost s velikim koeficijentom povezanosti između koncentracija grelina i ITM ( $r=-0,674$ ;  $p<0,001$ ) te

značajna negativna povezanost između koncentracije grelina i omjera struk/bokovi ( $r=0,307$ ;  $p<0,001$ ). Slično ponašanje grelina u žena s PCOS opisali su i drugi istraživači (52). Isti autori, međutim, nisu našli značajnu povezanost između razina inzulina i grelina u bolesnica s PCOS. U našem istraživanju pronašli smo statistički značajnu negativnu povezanost između koncentracije grelina i koncentracije inzulina, kao i statistički značajnu negativnu povezanost između koncentracije grelina i HOMA indeksa inzulinske rezistencije u serumu bolesnica s PCOS. Slično opažanje iznosi skupina istraživača iz Danske koji su osim ITM i omjera struk/bokovi koristili i apsorpciometriju rentgenskim zrakama dvostruke energije (eng. dual.energy X-ray absorptiometry scan –DXA) radi što točnije procjene raspodjele masnog tkiva u pacijentica s PCOS. Pritom opisuju najveću korelaciju sa centralnom akumulacijom masti. Premda su inicijalno pokazali značajnu obrnutu korelaciju između pokazatelja inzulinske rezistencije i razine grelina u PCOS bolesnica, nakon usklađivanja prema raspodijeli masnog tkiva DXA pretraživanjem, ova se povezanost izgubila pa autori zaključuju da masno tkivo ima veće značenje za sekreciju grelina nego inzulin (56).

U našem istraživanju nismo dokazali povezanost koncentracije grelina s ukupnim, kao niti sa slobodnim testosteronom u serumu u žena s PCOS što je u suprotnosti s većinom ranije objavljenih studija (54,56). Treba se, međutim, prisjetiti kako je u našem istraživanju utvrđena značajna negativna povezanost između koncentracije grelina i težine PCOS fenotipa ispitanica. Jedan od čimbenika težine PCOS fenotipa bila je i hiperandrogenemija, što posredno ipak ukazuje na mogućnost međusobnog utjecaja grelina i androgenih hormona.

Istraživanja su pokazala da su niske koncentracije grelina povezane s povišenim rizikom nastanka dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti (58,59) te da bi se grelin mogao smatrati neovisnim čimbenikom rizika za dijabetes tipa 2 (104). U naših smo ispitanica našli značajnu povezanost razine serumskog grelina s koncentracijama ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-a i LDL-a, dakle biokemijskim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika, što je na tragu prethodnih izvješća. I u slučaju grelina radi se o srednje velikom (za kolesterol i HDL) i velikom koeficijentu povezanosti (za trigliceride) pa se priklanjamo razmišljanju kako bi se grelin mogao koristiti kao neovisan čimbenik procjene visine kardiovaskularnog i metaboličkog rizika u žena s PCOS.

Metodom standardne linearne regresije kojom se ispitivao prediktivni utjecaj ITM-a, dijagnoze PCOS, HOMA indeksa i omjera struk/bokovi na koncentraciju grelina u cirkulaciji svih žena uključenih u studiju, sve su se varijable pokazale značajnima, no najveći utjecaj je imala pripadnost ispitanice kontrolnoj odnosno PCOS skupini ( $\beta=-0,660$ ,  $p<0,001$ ), Unutar

skupine PCOS ispitanica najjači utjecaj na razinu grelina imao je ITM ( $\beta=0,625$ ;  $p<0,001$ ), potom omjer struk/bokovi i HOMA indeks inzulinske rezistencije.

Zaključno, treba istaknuti da rezultati naše studije nesumnjivo pokazuju značajno promijenjenu regulaciju adiponektina, leptina, rezistina i grelina u bolesnica s PCOS u usporedbi sa zdravim ispitanicama. Vrlo je vjerojatno da postoji neki čimbenik neovisan o produkciji androgena i inzulinskoj rezistenciji, a ipak svojstven dijagnozi PCOS koji utječe na promijenjene razine adipokina u ovih žena. Ovo proizlazi iz činjenice da smo poremećene vrijednosti adipokina utvrdili i u onih žena s PCOS u kojih nije bilo inzulinske rezistencije, a vrijednosti androgena su bile normalne. Jedino u slučaju leptina dokazan je najjači utjecaj debljine, odnosno indeksa tjelesne mase na njegove razine u serumu ispitanica, no čak i ovdje neupitan je i utjecaj same dijagnoze. Jasno smo pokazali kako su vrijednosti adipokina u serumu žena s PCOS to više promijenjene što je više čimbenika rizika koje nalazimo u pojedinoj PCOS podskupini (debljina, inzulinska rezistencija, hiperandrogenemija). Obzirom na dokazanu čvrstu korelaciju između biokemijskih pokazatelja povišenog kardiovaskularnog rizika (kolesterol, trigliceridi, HDL, LDL) i vrijednosti adipokina u cirkulaciji bolesnica s PCOS, možemo zaključiti kako ove žene imaju povišen rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti u budućnosti te da bi mjerenje koncentracija adipokina u serumu žena s PCOS moglo bi biti korisno u procjeni visine ovog rizika. Slično vrijedi i za procjenu rizika pojave dijabetesa tipa 2, no prema našim rezultatima ovdje bi korisno bilo određivanje koncentracija grelina i leptina, dok za adiponektin i rezistin nismo utvrdili povezanost s pokazateljima inzulinske rezistencije. Ranim otkrivanjem promjena u lučenju pojedinih adipokina, kao putativnih markera kasnijih metaboličkih komplikacija, u bolesnica s PCOS na vrijeme bi se moglo započeti s preventivnim strategijama u smislu promjena životnih navika i/ili korištenja lijekova koji smanjuju osjetljivost na inzulin

## 7.0. ZAKLJUČCI

- Bolesnice s PCOS imaju značajno niže serumske razine adiponektina i grelina i značajno više serumske razine leptina i rezistina u odnosu na zdrave žene neovisno o stupnju debljine
- Unutar PCOS skupine žena debljina značajno utječe na razine adipokina u cirkulaciji.
- Postoji značajna pozitivna povezanost između koncentracija leptina i rezistina i podskupina PCOS bolesnica obzirom na težinu fenotipa, odnosno što je fenotip teži to su njihove koncentracije više.
- Postoji značajna negativna povezanost između koncentracija adiponektina i grelina i podskupina PCOS bolesnica obzirom na težinu fenotipa, odnosno što je fenotip teži to su njihove koncentracije niže.
- Značajno niže serumske razine adiponektina i grelina te značajno više serumske razine leptina i rezistina u odnosu na zdrave žene nazočne su i u onih žena s PCOS koje nemaju inzulinsku rezistenciju, niti hiperandrogenemiju (najblaži fenotip).
- Na razinu adiponektina i grelina u serumu svih ispitanica najveći utjecaj ima dijagnoza PCOS
- Na razinu leptina u serumu svih ispitanica najveći utjecaj ima indeks tjelesne mase.
- Na razinu rezistina u serumu svih ispitanica podjednak je utjecaj dijagnoze PCOS i indeksa tjelesne mase.
- Unutar skupine pacijentica s dijagnozom PCOS najveći utjecaj na razinu svih adipokina ima indeks tjelesne mase, odnosno debljina.
- Obzirom na značajno povišene vrijednosti kolesterola, LDL-a i hsCRP-a te značajno snižene vrijednosti HDL-a, bolesnice s PCOS imaju povišen rizik nastanka kardiovaskularnih bolesti i dislipidemije.
- Obzirom na značajno više vrijednosti pokazatelja inzulinske rezistencije (inzulina i HOMA indeksa), bolesnice s PCOS imaju povišen rizik nastanka dijabetesa tipa 2.
- Mjerenje koncentracija adiponektina, grelina, leptina i rezistina u serumu žena s PCOS moglo bi biti korisno u procjeni visine rizika nastanka kardiovaskularnih bolesti.
- Mjerenje koncentracija grelina i leptina u serumu žena s PCOS moglo bi biti korisno u procjeni visine rizika pojave dijabetesa tipa 2.

## 8.0. SAŽETAK

Sindrom policističnih jajnika (PCOS) je multisistemi, endokrinološki, reprodukcijski i metabolički poremećaj, karakteriziran oligo/anovulacijama, hiperandrogenizmom i policističnim izgledom jajnika. Često je udružen s debljinom i inzulinskom rezistencijom. Žene s PCOS imaju povišen rizik za šećernu bolest tipa 2, dislipidemiju i kardiovaskularne bolesti. Sve je više studija koje govore u prilog da je lučenje hormona masnog tkiva – adipokina (leptina, adiponektina, grelina i rezistina) promijenjeno u bolesnica s PCOS te da bi promjene u lučenju adipokina kod žena s PCOS mogle biti važan pretskazatelj kliničkog tijeka bolesti uključujući nastanak dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti.

ISPITANICE I METODE: U istraživanje smo uključili 151 ženu s dijagnozom PCOS postavljenu prema Rotterdamskim kriterijima i 95 zdravih žena usklađenih prema dobi i tjelesnoj težini. Usporedili smo razine leptina, rezistina, grelina i adiponektina te biokemijskih pokazatelja inzulinske rezistencije (inzulin i HOMA indeks) i kardiovaskularnog rizika (kolesterol, LDL, hsCRP) između ispitivanih skupina s ciljem utvrđivanja razlika u njihovim vrijednostima. Potom smo usporedili vrijednosti ovih adipokina između različitih fenotipa PCOS i pokušali utvrditi koji od ispitivanih čimbenika ima najveći utjecaj na njihove serumske razine.

REZULTATI: Utvrdili smo statistički značajne razlike u serumskim razinama svih adipokina između ispitivanih skupina ( $p < 0,001$ ). Vrijednosti inzulina i HOMA indeks te kolesterol, LDL i hsCRP bili su značajno viši u PCOS skupini ( $p < 0,001$ ). Značajna razlika nađena je u razinama svih adipokina unutar PCOS skupine kada smo usporedili bolesnice normalne težine s onima prekomjerne težine ( $p < 0,001$ ). Utvrdili smo značajnu pozitivnu povezanost koncentracija leptina i rezistina i značajnu negativnu povezanost koncentracija adiponektina i grelina s porastom težine PCOS fenotipa koji se razlikovao obzirom na nazočnost ili izočnost hiperandrogenemije, inzulinske rezistencije i debljine. Metodom standardne linearne regresije ustanovili smo najveći utjecaj same dijagnoze PCOS na razine adiponektina ( $\beta = -0,743$ ,  $p < 0,001$ ) i grelina ( $\beta = -0,660$ ,  $p < 0,001$ ), u serumu ispitanica, dok je na razinu leptina najveći utjecaj imao ITM ( $\beta = 0,540$ ,  $P < 0,001$ ). Na razinu rezistina utjecaj dijagnoze ( $\beta = 491$ ,

$p < 0,001$ ) i ITM ( $\beta = 491$ ,  $p < 0,001$ ) bio je gotovo identičan. Unutar skupine PCOS ispitanica na razine svih adipokina u cirkulaciji najviše je utjecala debljina, odnosno ITM.

**ZAKLJUČAK:** Bolesnice s PCOS imaju značajno povišene razine leptina i rezistina i značajno snižene razine adiponektina i grelina u serumu u odnosu na zdrave žene, a njihove koncentracije mijenjaju se s težinom fenotipa. Identifikacijom bolesnica s promjenama u lučenju adipokina, kao putativnih markera kasnijih metaboličkih komplikacija, na vrijeme bi se moglo započeti s preventivnim strategijama u smislu promjena životnih navika i/ili korištenja lijekova koji smanjuju osjetljivost na inzulin.

**KLJUČNE RIJEČI:** sindrom policističnih jajnika, leptin, adiponektin, grelin, rezistin

## 9.0. SUMMARY

### Adipokines in patients with polycystic ovary syndrome

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a multisystem endocrinological reproductive-metabolic disorder, characterised with oligo/anovulation, hyperandrogenism and polycystic ovaries. PCOS is often connected with obesity and insulin resistance. Patients with PCOS have increased risk for infertility, diabetes mellitus type 2, hypertension and cardiovascular diseases.

**STUDY SUBJECTS AND METHODS:** The study included 151 women diagnosed with PCOS set by the Rotterdam criteria and 95 healthy women matched by age and weight. We compared the levels of leptin, resistin, ghrelin, and adiponectin, and biochemical parameters of insulin resistance (insulin and HOMA index) and cardiovascular risk factors (cholesterol, LDL, hsCRP) between the two groups to determine differences in their values. Furthermore, we compared the values of these adipokines among different PCOS phenotypes and tried to determine which of the examined factors have the greatest impact on their serum levels.

**RESULTS:** We found statistically significant differences in all adipokines serum levels between PCOS patients and healthy controls ( $p < 0.001$ ). The values of insulin and HOMA index, and cholesterol, LDL, and hsCRP were significantly higher in PCOS group ( $p < 0.001$ ). There were a significant differences in adipokines serum levels between normal weight ( $BMI \leq 25$ ) and overweight ( $BMI \geq 25$ ) PCOS patients ( $p < 0.001$ ). A significant positive correlation for the leptin and resistin concentrations, and significant negative correlation for the

adiponectin and ghrelin concentrations with increasing severity of PCOS phenotype was observed (the more risk factors, such as higher BMI, hyperandrogenemia, and greater insulin resistance patient had, the lower concentration of adiponectin and ghrelin, and the higher concentration of leptin and resistin were found). By the method of standard linear regression, we found the greatest impact of the diagnosis of PCOS on adiponectin levels ( $\beta = -0.743$ ,  $p < 0.001$ ) and ghrelin levels ( $\beta = -0.660$ ,  $p < 0.001$ ) in the serum of patients, whereas on the leptin levels BMI had the greatest impact ( $\beta = 0.540$ ,  $P < 0.001$ ). The impact of PCOS diagnosis ( $\beta = 491$ ,  $p < 0.001$ ) and BMI ( $\beta = 491$ ,  $p < 0.001$ ) on serum resistin levels was nearly identical. Among the PCOS patients, the greatest impact of ITM on the circulating adipokine levels was found.

**CONCLUSIONS:** Women with PCOS have significantly elevated leptin and resistin serum levels, and significantly lower adiponectin and ghrelin serum levels than healthy women, and their concentrations change with the severity of the phenotype. Identification of women with altered adipokine expression as putative markers of possible metabolic and cardiovascular complications, would be useful for setting up preventive strategies by life-style changes and/or use of insulin-sensitising agents.

**KEY WORDS:** polycystic ovary syndrome, leptin, adiponectin, ghrelin, resistin

## 10.0. LITERATURA

1. Hart R, Hickey M, Franks S. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18(5):671-83.
2. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007;370(9588):685-97.
3. Juoula M, Saarikoski LA, Viikari JSA, Oikonen M, Lehtimäki T, Lyytikäinen LP i sur. A longitudinal analysis on associations of adiponectin levels with metabolic syndrome and carotid artery intima-media thickness. The cardiovascular risk in young Finns study. *Atherosclerosis* 2011;217(1):234-9.
4. Lu HL, Wang HW, Wen Y, Zhang MX, Lin HH. Roles of adipocyte derived hormone adiponectin and resistin in insuline resistance of type 2 diabetes. *World J Gastroenterol* 2006;12(11):1747-51.
5. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;29:181-91.
6. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In Dunaif A, Givens JR, Haseltine FR, Merriam GR, urednici. *Polycystic Ovary Syndrome*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1992:377-384.
7. The Rotterdam ESHRE/ASRM – Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19(1):41-7.
8. Azziz R, Carmina E, Dewailly D i sur. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4237-45.
9. Carmina E, Azziz R. Diagnosis, phenotype, and prevalence of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006;86: Suppl 1:7-8.
10. Belosi C, Selvaggi L, Apa R i sur. Is the PCOS diagnosis solved by ESHRE/ASRM? *Hum Reprod* 2006;21:3108-3115.
11. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DJ, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Rep* 2010;25(2):544-51.



12. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961 Nov;21:1440-7.
13. Huang A, Brennan K, Azziz R. Prevalence of hyperandrogenemia diagnosed by the National Institutes of Health 1990 criteria. *Fertil Steril* 2010;93(6):1938-41.
14. Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003;9(6):505-14.
15. Govind A, Obhrai MS, Clayton RN. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:38-43.
16. Leibel NI, Baumann EE, Kocherginsky M, Rosenfield RL. Relationship of adolescent polycystic ovary syndrome to parental metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1275-83.
17. Goodarzi M. Genetics of PCOS. U: Azziz R, urednik. *The Polycystic Ovary Syndrome Current Concepts on Pathogenesis and Clinical Care*: Springer; 2007. str. 29-42.
18. Abbott DH, Barnett DK, Bruns CM, Dumesic DA. Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental aetiology for polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod Update* 2005;11:357-374.
19. Abbott DH, Dumesic DA, Franks S. Developmental origin of Polycystic ovary syndrome: A hypothesis. *J Endocrinol* 2002;174:1-5.
20. Hart R, Sloboda DM, Doherty DA i sur. Circulating maternal testosterone concentrations at 18 weeks of gestation predict circulating levels of antimüllerian hormone in adolescence: a prospective cohort study. *Fertil Steril* 2010;94(4):1544-7.
21. Franks S, Starke J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2008;14:367-378.
22. Jonard S, Dewailly D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intraovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004;10:107-117.
23. 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.

24. Gambineri A, Pelusi C, Manicardi E i sur. Glucose intolerance in a large cohort of mediterranean women with polycystic ovary syndrome: phenotype and associated factors. *Diabetes* 2004;53:2353–8.
25. Dunaif A. Insulin Resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implicationf for pathogenesis. *Endocrine Reviews* 1997;18(6):774-800.
26. Dunaif A, Wu X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E. Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Am J Physiol Metab* 2001;281:E392-9.
27. Baillargeon JP, Carpentier AC. Role of insulin in the hyperandrogeniam of lean women with polycystic ovary syndrome and normal insulin sensitivity. *Fertil Steril* 2007;88(4):886-93.
28. Escobar-Morreale HF, San Milan JL. Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metabol* 2007;18:266-272.
29. Homburg R. Androgen circle of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2009;24:1548-1555.
30. Moschos S, Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and reproduction: a review. *Fertil Steril* 2002;77:433-444.
31. Brzechffa PR, Jakimiuk AJ, Agarawi SK, Weitsman SR, Buyalos RP, Magoffin DA. Serum immunoreactive leptin concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4166–8.
32. El Orabi H, Ghalia AA, Khalifa A, Mahfouz H, Shalkani A, Shoeib N. Serum leptin as an additional possible pathogenic factor in polycystic ovary syndrome. *Clin Biochem* 1999;32:71–5.
33. Vicennati V, Gambineri A, Calzoni F i sur. Serum leptin in obese women with polycystic ovary syndrome is correlated with body weight and fat distribution but not with androgen and insulin levels. *Metabolism* 1998;48:988-92.
34. Remsberg K, Talbott E, Zborowski J, Evans R, McHugh-Pemu K. Evidence for competing effects of body mass, hyperinsulinemia, insulin resistance, and androgens on leptin levels among lean, overweight, and obese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;78:479–86.
35. Rouru J, Anttila L, Koskinen P i sur. Serum leptin concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1697–700.
36. Mancini F, Cianciosi A, Marchesini Reggiani G, Facchinetti F, Battaglia C, de Aloysio D. Endothelial function and its relationship to leptin, homocysteine, and

- insulin resistance in lean and overweight eumenorrheic women and PCOS patients: a pilot study. *Fertil Steril* 2009;91(6):2537-2544.
37. Romero-Corral A, Sierra-Johnson J, Lopez-Jimenez F i sur. Relationships between leptin and C-reactive protein with cardiovascular disease in the adult general population. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5(7):418-25.
  38. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M. The adipocyte-secreted protein Acrp 30 enhances hepatic insulin action. *Nature medicine* 2001;947-953.
  39. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K i sur. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* 2001;7:941-6.
  40. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S i sur. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1930–1935.
  41. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T i sur. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 2002;277:25863–25866.
  42. Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y et al. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:2325–2328.
  43. Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13:84–89.
  44. Comuzzie AG, Funahashi T, Sonnenberg G i sur. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4321–4325.
  45. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R i sur. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002;51:2306–2312.
  46. Kazumi T, Kawaguchi A, Sakai K, Hirano T, Yoshino G. Young men with high-normal blood pressure have lower serum adiponectin, smaller LDL size, and higher elevated heart rate than those with optimal blood pressure. *Diabetes Care* 2002;25:971–976
  47. Ouchi N, Kihara S, Arita Y i sur. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000;102:1296–1301.

48. Toulis KA, Goulis DG, Farmakiotis D i sur. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009;15(3):297–307.
49. Lagaly DV, Aad PY, Grado-Ahuir JA et al. Role of adiponectin in regulating ovarian theca and granulosa cell function. *Mol Cell Endocrinol* 2008;284:38-45.
50. Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghengi R, Heiman M, Ghrigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin; implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 2002;440:235-54.
51. Shetty GK, Economides PA, Horton ES, Mantzoros CS, Veves A. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:2450–7.
52. Orio F Jr, Lucidi P, Palomba S i sur. Circulating ghrelin concentrations in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:942–5.
53. Schofl C, Horn R, Schill T, Schlosser HM, Muller MJ, Brabant G. Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(10):4607-10.
54. Panidis D, Farmakiotis D, Koliakos G i sur. Comparative study of plasma ghrelin levels in women with polycystic ovary syndrome, in hyperandrogenic women and in normal controls. *Hum Reprod* 2005;20:2127-32.
55. Wasko R, Komarowska H, Warenik-Szymankiewicz A, Sowinski J. Elevated ghrelin plasma levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res* 2004;36(3):170-3.
56. Glitintborg D, Andersen M, Hagen C i sur. Evaluation of metabolic risk markers in polycystic ovary syndrome (PCOS). Adiponectin, ghrelin, leptin and body composition in hirsute PCOS patients and controls. *Eur J Endocrinol* 2006;155:337-45
57. Barber TM, Casanueva FF, Karpe F i sur. Ghrelin levels are suppressed and show a blunted response to oral glucose in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2008;158:511–516.
58. Tesauro M, Schinzari F, Iantorno M i sur. Ghrelin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *Circulation* 2005;112:2986–92.
59. Isgaard J, Barlind A, Johansson I. Cardiovascular effects of ghrelin and growth hormone secretagogues. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2008;8:133–7.

60. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S i sur. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001;409(6818):307-12.
61. Reilly MP. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005;111:932-9.
62. Degawa-Yamauchi M. Serum resistin protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metabol* 2003;88:5452-5.
63. Heilbronn LK. Relationship between serum resistin concentrations and insuline resistance in nonobese, obese and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1844-8.
64. Osawa H. Plasma resistin, associated with single nucleotid polymorphism-402 is correlated with insulin resistance, lower HDL, cholesterol and high sensitivity C-reactive protein in the Japanese general population. *Diabetes Care* 2007;30:1051-6.
65. Lee JH. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insuline resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4848-56.
66. Kielstein JT. Increase resistin blood levels are not associated with insulin resistance in patients with obesity. *Am J Kidney Dis* 2003;42:62-6.
67. Munir I, Yen HW, Baruth T, Tarkowski R, Azziz R, Magoffin DA. Resistin stimulation of 17alfa-hydroxylase activity in ovarian theca cells in vitro: relevance to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4852-7.
68. Seow KM, Juan CC, Ho LT, Hsu YP, Lin YH, Huang LW. Adipocyte resistin mRNA levels are down-regulated by laparoscopic ovarian electrocautery in both obese and lean women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007;22:1100-6.
69. Yilmaz M, Bukan N, Demirci H i sur. Serum resistin and adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2009;25(4):246-52.
70. Arikan S, Bahceci M, Tuzcu A, Kale E, Gökalp D. Serum resistin and adiponectin levels in young non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2010;26(3):161-6.
71. Thomopoulos C, Daskalaki M, Papazachou O i sur. Association of resistin and adiponectin with different clinical blood pressure phenotypes. *J Hum Hypertens* 2011;25(1):38-46.
72. Nogueiras R, Novelle MG, Vazquez MJ, Lopez M, Dieguez C. Resistin: Regulation of Food Intake, Glucose Homeostasis and Lipid Metabolism. *Endocr Dev* 2010;17:175-184.

73. Osawa H, Doi Y, Makino H, Ninomiya T, Yonemoto K, Kawamura R. Diabetes and hypertension markedly increased the risk of ischemic stroke associated with high serum resistin concentration in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Cardiovasc Diabetol* 2009;8:60.
74. Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P. Insulin resistance early in adulthood in subjects born with intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1401-1406.
75. Ibanez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M, de Zegher F. Catch-up growth in girls born small for gestational age precedes childhood to high adiposity. *Fertil Steril* 2011; 96(1):220-3.
76. Wild S, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H. Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol* 2000;52:595–600.
77. Legro RS, Kusanman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001;111:607–13.
78. Talbott EO, Zborowski JV, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Guzick DS. Cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2001;28:111–33
79. Cibula D, Cifkova R, Fanta M, Poledne R, Zivny J, Skibova J. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2000;15:785–9.
80. Christian RC, Dumesic DA, Behrenbeck T, Oberg AL, Sheedy PF 2nd, Fitzpatrick LA. Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2562–8.
81. Talbott EO, Zborowski JV, Rager JR, Boudreaux MY, Edmundowicz DA, Guzick DS. Evidence for an association between metabolic cardiovascular syndrome and coronary and aortic calcification among women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5454–61.
82. Solomon CG, Hu FB, Dunaif A i sur. Long or highly irregular menstrual cycles as a marker for risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286:2421–6.
83. Alvarez-Biasco F, Botella-Carretero JJ, San Millan JL, Escobar-Morreale HF. Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women. *Arch Intern Med* 2006;23:2081-2086.

84. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999;22:141–6.
85. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I i sur. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance indeks and serum high.density lipo-protein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)* 2002;103:137-42.
86. Sepillian V, Nagamani M. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome and severe insulin resistance. *J Soc Gynecol Investig* 2005;12:129-134
87. Ardawi MS, Raouzi AA. Plasma adiponectin and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;83:1708-1716
88. Carmina E, Orio F, Palomba S i sur. Evidence for altered adipocyte function in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2005;152:389-394
89. Ecobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JI i sur. Adiponectin and resistin in PCOS: a clinical, biochemical and molecular genetic study. *Hum Reprod* 2006;22:2257-2265
90. Orio F, Palomba S, Casella T i sur. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2619-33
91. Panidis D, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D, Koliakos G. Serum adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2003;18:1790-1796
92. Sieminska L, Marek B, Kos-Kudla B i sur. Serum adiponectin in women with polycystic ovarian syndrome and its relation to clinical, metabolic and endocrine parameters. *J Endocrinol Invest* 2004;27:528-534.
93. Vrbikova J, Dvorakova K, Hill M i sur. Determinants of circulating adiponectin in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obst Investig* 2005;60:155-161
94. Pehlivanov B, Mitkov M. Serum leptin levels correlate with clinical and biochemical indices of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2009;14(2):153-9.
95. Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D. Serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;81(2):361-
96. Seow KM, Juan CC, Wu LY i sur.. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance. *Hum Reprod* 2004;19(1):48-53.

97. Carmina E, Orio F, Palomba S i sur. Endothelial dysfunction in PCOS: role of obesity and adipose hormones. *Am J Med* 2006;119:1-6.
98. Stepan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13:18-22.
99. Janke J, Engeli S, Gorzelnik K, Luft FC, Sharma M. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 2002;10:1-5.
100. Lewandowski KC, Szosland K, O'Callaghan C, Tan BK, Randeve HS, Lewinski A. Adiponectin and resistin serum levels in women with polycystic ovary syndrome during oral glucose tolerance test: a significant reciprocal correlation between adiponectin and resistin independent of insulin resistance indices. *Mol Genet Metab*. 2005;85(1):61-69.
101. Otto B, Spranger J, Benoit SC, Clegg DJ, Tschöp MH. The many faces of ghrelin: new perspectives for nutrition research? *Br J Nutr* 2005;93(6):765-71
102. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001;50(4):707-9.
103. Ghigo E, Broglio F, Arvat E, Maccario M, Papotti M, Muccioli G. Ghrelin: more than a natural GH secretagogue and/or an orexigenic factor. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62(1):1-17.
104. Pöykkö SM, Kellokoski E, Hörkkö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2003;52(10):2546-53.



## 11.0. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 11. rujna 1964. godine u Zagrebu gdje sam završio osnovnu i srednju školu. Diplomirao sam na Medicinskom fakultetu u Zagrebu 1990.godine. Specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije započeo sam 1992. godine u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, a specijalistički ispit položio 1996. godine.

Znanstveni poslijediplomski studij „Medicinske znanosti“ upisao sam 1998. godine te 2004. godine stekao akademski stupanj: magistar znanosti, obranivši magistarski rad pod naslovom „Ishod trudnoća u žena s prirođenim anomalijama maternice“.

Područje mog užeg znanstvenog i stručnog interesa je perinatalna medicina, a 20. 12. 2006. godine stekao sam naziv užeg specijalista iz fetalne medicine i opstetricije položivši ispit pred ispitnom komisijom Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi.

Aktivno sam sudjelovao u radu brojnih domaćih i nekoliko međunarodnih znanstvenih skupova iz područja ginekologije i porodništva. Sudjelovao sam u provođenju projekta Ministarstva znanosti "Čimbenici u nastanku prijevremenog poroda", voditelja prof. dr. Ivana Kuvačića, kao i na projektu Ministarstva znanosti "Utjecaj antenatalnih zbivanja na dugoročni neonatalni ishod", voditeljice prof. dr. sc. Snježane Škrablin-Kučić.

Trenutno sam suradnik na nekoliko znanstvenih projekata: „Prikaz perinatalnih čimbenika značajnih za dugoročni neurorazvojni ishod“; voditelj projekta: prof. dr. sc. Snježana Škrablin-Kučić i „Nasljedne endokrine bolesti u djece“; voditelj projekta: prof. dr. sc. Miroslav Dumić. Autor sam nekoliko, a koautor više znanstvenih članaka objavljenih u indeksiranim publikacijama. Autor sam i nekoliko poglavlja u stručnim knjigama iz područja perinatologije.

Unazad 10 godina sudjelujem u provođenju nastave pri Katedri za ginekologiju i porodništvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu održavajući vježbe i seminarsku nastavu.

Od 1996.-2007. godine radio sam kao odjelni liječnik na Odjelu patologije trudnoće 2 Zavoda za perinatalnu medicinu Klinike za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Od 2007. godine voditelj sam Odjela rađaonice u istom Zavodu.

Oženjen sam i otac dvoje djece.