

Utjecaj oralne hormonske kontracepcije na reproduksijsku rezervu jajnika

Dumanić, Klara

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:663169>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO TEHNOLOŠKI FAKULTET
I
MEDICINSKI FAKULTET

Klara Dumanić

**UTJECAJ ORALNE HORMONSKE KONTRACEPCIJE NA REPRODUKCIJSKU
REZERVU JAJNIKA**

Diplomski rad

Akadska godina: 2018./2019.

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Mudnić, dr.med.

Komentor: doc. dr. sc. Jelena Marušić, dr.med.

Split, prosinac, 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO TEHNOLOŠKI FAKULTET
I
MEDICINSKI FAKULTET

Klara Dumanić

**UTJECAJ ORALNE HORMONSKE KONTRACEPCIJE NA REPRODUKCIJSKU
REZERVU JAJNIKA**

Diplomski rad

Akadska godina: 2018./2019.

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Mudnić, dr.med.

Komentor: doc. dr. sc. Jelena Marušić, dr.med.

Split, prosinac, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje: Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje: Farmacija
Nastavni predmet: Farmakologija
Tema rada je prihvaćena na 53. sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 3. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta i 2. sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor: doc. dr. sc. Ivana Mudnić
Pomoć pri izradi: doc. dr. sc. Jelena Marušić

UTJECAJ ORALNE HORMONSKE KONTRACEPCIJE NA REPRODUKCIJSKU REZERVU JAJNIKA

Klara Dumanić, 93

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je pokazati mijenjaju li se parametri ovarijske rezerve (anti-Müllerov hormon, AMH) i hormonalni status pacijenticama sa sindromom policističnih jajnika (PCOS-om) nakon tromjesečne primjene oralne hormonske kontracepcije. U istraživanje je bilo uključeno 19 ispitanica sa sindromom policističnih jajnika te kliničkim i laboratorijskim znakovima hiperandrogenizma bez dodatnih komorbiditeta i komedikacije. Svim je ispitanicama propisana terapija istim oralnim hormonskim kontraceptivom (fiksna kombinacija 0,035 mg etinil estradiola i 2 mg ciproteron acetata). Mjere ishoda bile su dob, vrijednosti reproduktivnih hormona izmjerene prije početka terapije te u prvom ciklusu nakon terapije te tjelesna visina, težina i indeks tjelesne mase. Koncentracije hormona analizirane su imunokemijskom elektrokemiluminiscentnom metodom (ECLIA). Prosječna dob ispitanica bila je 29 godina, tjelesna težina 69 kg, a indeks tjelesne mase 24,2 kg/m². Početne koncentracije ukupnog i slobodnog testosterona te AMH bile su povišene dok su početne koncentracije ostalih reproduktivnih hormona bile unutar referentnih vrijednosti. Primjenom terapije koncentracije AMH, luteinizirajućeg hormona te estradiola smanjile su se za 20 %, a slobodnog testosterona za više od 85 %. Koncentracija globulina koji veže spolne hormone se očekivano povećala za 40 %. Na temelju provedenog istraživanja zaključuje se da tromjesečna primjena oralne hormonske kontracepcije prividno smanjuje ovarijsku rezervu i uzrokuje promjene u koncentraciji reproduktivnih hormona. Za precizniju procjenu stvarne ovarijske rezerve potrebna su daljnja istraživanja temeljena na dugoročnijem praćenju hormonalnog statusa pacijentica s PCOS-om.

Ključne riječi: Anti-Müllerov hormon, ovarijska rezerva, sindrom policističnih jajnika, oralna hormonska kontracepcija

Rad sadrži: 61 stranica, 10 slika, 6 tablica, 103 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. doc. dr. sc. Joško Božić, dr. med. – predsjednik
2. doc. dr. sc. Franko Burčul, dipl. ing. – član
3. doc. dr. sc. Jelena Marušić, dr. med. – član, komentor

Datum obrane: 17. prosinca 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Teslina 10 i Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Split, Croatia

Scientific area: Biomedical sciences

Scientific field: Pharmacy

Course title:

Thesis subject was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. 53 as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no.3 and Faculty Council of School of Medicine session no. 2.

Mentor: Assistant professor Ivana Mudnić, PhD

Technical assistance: Assistant professor Jelena Marušić, PhD

THE EFFECTS OF ORAL CONTRACEPTIVES THERAPY ON OVARIAN RESERVE

Klara Dumanić, 93

Summary: The aim of this study was to show whether the parameters of ovarian reserve (Anti-Müllerian hormone, AMH) and the hormonal status of patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) changed after three months of oral contraceptives therapy. The study included 19 patients with polycystic ovary syndrome and clinical and laboratory signs of hyperandrogenism without additional comorbidity and additional medications therapy. All participants were prescribed with the same therapy (a fixed combination of 0.035 mg of ethinyl estradiol and 2 mg of cyproterone acetate). The measurable outcomes were age, concentrations of reproductive hormones measured before the therapy and during the first menstrual cycle after the end of the therapy, as well as body height, weight and body mass index. Hormone concentrations were analyzed by the immunochemical electrochemiluminiscent method (ECLIA). Mean age of the participants was 29 years, body weight 69 kg, and body mass index 24.2 kg / m². Initial concentrations of total and free testosterone, and AMH were elevated while initial concentrations of other reproductive hormones were within reference values. Due to the treatment, AMH, luteinizing hormone and estradiol concentration decreased by 20% and free testosterone by more than 85%. Expectedly, the concentration of sex-hormone binding globulin increased by 40%. Based on the results of presented research, three months of oral contraceptives therapy apparently reduced the ovarian reserve and induced changes in the concentration of reproductive hormones. For better assessment of ovarian reserve, further research based on a longer-term monitoring of the patient's hormonal status with PCOS is needed.

Key words: Anti-Mullerian hormone, ovarian reserve, polycystic ovary syndrome, oral contraceptives

Thesis contains: 61 pages, 10 figures, 6 tables, 103 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Joško Božić – MD, PhD, assistant professor – chair person
2. Franko Burčul – PhD, Mag. ing. Chem. ing., assistant professor – member
3. Jelena Marušić – MD, PhD, assistant professor – co-supervisor

Defence date: December 17, 2018.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Teslina 10 and Library of School of Medicine, Šoltanska 1.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Folikulogeneza.....	2
1.2. Plodnost žene.....	2
1.3. Ovarijska rezerva	2
1.3.1. Anti-Müllerov hormon (AMH)	3
1.3.2. Folikulostimulirajući hormon (FSH)	5
1.3.3. Estradiol (E2)	5
1.3.4. Broj antralnih folikula (engl. <i>antral follicle count</i> - AFC).....	6
1.4. Oralna hormonska kontracepcija	6
1.4.1. Sastav	7
1.4.2. Mehanizam djelovanja.....	9
1.4.3. Indikacije za korištenje i povoljni učinci	11
1.4.4. Kontraindikacije za primjenu OHK.....	12
1.4.5. Nuspojave OHK	13
1.5. Sindrom policističnih jajnika.....	16
1.5.1. Definicija.....	16
1.5.2. Dijagnosticiranje i prevalencija.....	16
1.5.3. Klinička slika.....	18
1.5.4. Etiologija i patofiziologija	20
1.5.5. Terapija i posljedice.....	21
1.6. Utjecaj OHK na hormonalni status.....	22
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	24
3. ISPITANICI I METODE.....	26
3.1. Organizacija istraživanja	27
3.2. Ispitanici	27
3.3. Mjesto istraživanja	27
3.4. Opis istraživanja.....	27
3.5. Metode određivanja laboratorijskih parametara	28
3.6. Statistička obrada podataka	28
4. REZULTATI.....	29
4.1. Dob i tjelesna masa ispitanica.....	30
4.2. Usporedba mjerenih parametara prije i poslije terapije	30

4.3. Odnos AMH s mjerenim parametrima	34
5. RASPRAVA	36
6. ZAKLJUČCI	42
7. LITERATURA.....	44
8. SAŽETAK	54
9. SUMMARY	57
10. ŽIVOTOPIS	60

ZAHVALA

Od srca se zahvaljujem mojim mentoricama doc. dr. sc. Ivani Mudnić i doc. dr. sc. Jeleni Marušić što su mi omogućile izradu diplomskog rada na temu koju sam tijekom cijelog svog obrazovanja željela obraditi. Hvala na beskrajnoj podršci, strpljivosti, brojnim sugestijama, pohvalama i kritikama.

Hvala mojoj obitelji koja je svo ovo vrijeme bila moj najveći oslonac i bez koje nebi postigla sve što jesam.

Posebno hvala mojim prijateljima i kolegama koji su mi omogućili da ovo studiranje bude najljepši period mog života.

Popis kratica

AFC – broj antralnih folikula (engl. *antral follicle count*)

AMH – Anti-Müllerov hormon

FSH – folikulostimulirajući hormon

GnRH – hormon koji oslobađa gonadotropine (engl. *gonadotropin-releasing hormone*)

LH – luteinizirajući hormon

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*)

hCG – humani korionski gonadotropin (engl. *human chorionic gonadotropin*)

ITM – indeks tjelesne mase (engl. *body mass index* - BMI)

OHK – oralna hormonska kontracepcija

PCOS – sindrom policističnih jajnika (engl. *polycystic ovary syndrome*)

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

DHEAS – dehidroepiandrosteron-sulfat

E2 – estradiol

EE – etinil estradiol

HDL – lipoprotein velike gustoće (engl. *high-density lipoprotein*)

LDL – lipoprotein male gustoće (engl. *low-density lipoprotein*)

VTE – venska tromboembolija

ATE – arterijska tromboembolija

SAD – Sjedinjene Američke Države

1. UVOD

1.1. Folikulogeneza

Folikuli se sastoje od jajne stanice te stanica granuloze i stanica teke, a čine osnovnu funkcionalnu jedinicu jajnika. Žena je rođena s oko 2 milijuna folikula, ali do menarhe preostaje samo njih 400.000. To se događa zbog procesa prirodne folikularne atrezije jer bez hormonskog poticaja, koji započinje u pubertetu, folikuli ne mogu u potpunosti sazrijeti. Brzina propadanja jajnih stanica se povećava starenjem i do kasnih tridesetih godina broj folikula se smanjuje na približno 25.000 (1). Folikul ima 8 stadija razvoja, a najvažniji su primordijalni, primarni, preantralni, antralni, predovulacijski i ovulacijski stadij. Sazrijevanje od primarnog do ovulacijskog stadija traje 85 dana. Rana folikulogeneza počinje neovisno o gonadotropinima te se folikuli koji ne propadnu atrezijom nego nastave rasti nazivaju preantralni folikuli. Oni potom prelaze u antralne folikule u kojima se stanice granuloze umnažaju 500 do 600 puta što dovodi do povećane produkcije hormona. Sredinom ciklusa, od antralnih folikula vrši se selekcija jednog dominantnog folikula koji nakon toga prelazi u predovulacijski folikul što rezultira ovulacijom (2).

1.2. Plodnost žene

S obzirom da se žena rađa s konačnim brojem jajnih stanica njena plodnost s godinama samo opada. Starenjem se povećava broj spontanih pobačaja i kromosomskih abnormalnosti, a značajniji pad plodnosti zabilježen je već nakon 35. godine. Smanjenjem rezerve folikula u jajnicima „probir jajne stanice“ za ovulaciju postaje teži i problematičnog je uspjeha. Optimalna plodnost žena u prosjeku traje 15 godina, a u periodu od 20. do 30. godine jajne stanice su najkvalitetnije. Danas je odgađanje rađanja glavni uzrok neplodnosti. Među ostalim uzrocima neplodnosti najznačajnije su bolesti reproduktivnog sustava u koje spadaju anovulacije, sindrom policističnih jajnika, upale spolnih organa, spolno prenosive bolesti, endometrioza i adenomioza, abnormalnosti maternice te ginekološke operacije. Na kvalitetu plodnosti muškaraca i žena utječu premećaji tjelesne mase, pušenje duhana, konzumacija alkohola, okolišni i nutritivni čimbenici te onkološke bolesti (3,4).

1.3. Ovarijska rezerva

Termin „ovarijska rezerva“ tradicionalno se koristi za predviđanje ženskog reproduktivnog potencijala odnosno broj preostalih antralnih folikula raspoloživih za folikulogenezu. Testovi ovarijske rezerve ukazuju na broj preostalih jajnih stanica, dok

njihova kvaliteta najviše ovisi o dobi žene. Stanje smanjene ovarijske rezerve karakteristično je za žene reproduktivne dobi s očuvanom menstruacijom čiji je odgovor na stimulaciju jajnika ili plodnost smanjen u usporedbi sa ženama iste dobne skupine (1). U tom slučaju zbog smanjenja pričuve malih antralnih folikula opada mogućnost optimalnog odabira kohorte za folikulogenezu (3).

Broj jajnih stanica preostalih u jajnicima nije moguće direktno izmjeriti pa se pri procjeni ovarijske rezerve koristimo indirektnom procjenom rezerve jajnika određivanjem reproduktivnih hormona te ultrazvučnim mjerenjima. Broj antralnih folikula (engl. *antral follicular count* - AFC) određujemo ultrazvučnim pregledom jajnika te taj broj snažno korelira sa serumskim razinama hormona (3). Ovarijsku rezervu moguće je odrediti pasivnim i dinamičkim testovima. Pasivnim testovima se mjeri postojeće stanje hormona, a dinamički testovi se temelje na mjerenju odgovora jajnika na stimulaciju egzogenim tvarima. Serumski razina FSH-a i estradiola, omjer bazalnih vrijednosti LH-a i FSH-a, serumski vrijednosti inhibina-B, serumski vrijednosti AMH-a, ultrazvučno mjeren volumen jajnika, broj antralnih folikula (AFC), mjerenje protoka krvi kroz jajnike te biopsija jajnika pripadaju pasivnim metodama utvrđivanja ovarijske rezerve. Dinamički testovi su: provokacijski test klomifen citratom, egzogeni FSH test ovarijske rezerve te stimulacijski test GnRH agonistima (5). Iako trenutačno nema savršenog testiranja ovarijske rezerve, serumski AMH i AFC su iznimno precizni biljezi, imaju dobru prediktivnu vrijednost te se uz FSH i dob smatraju najpouzdanijim pokazateljima ovarijske rezerve i plodnosti (1,3,6). Određivanje ovarijske rezerve indicirano je kod pacijentica starijih od 35 godina, idiopatske neplodnosti, prijevremene menopauze u obiteljskoj anamnezi, kod pacijentica koje konzumiraju duhan, prije i nakon kemoterapijskog liječenja, zračenja ili ginekoloških operativnih zahvata u anamnezi te pri planiranju postupaka medicinski potpomognute oplodnje (3). Osim u navedenim indikacijama testovi ovarijske rezerve mogu se koristiti i pri postavljanju dijagnoze sindroma policističnih jajnika (7).

1.3.1. Anti-Müllerov hormon (AMH)

Anti-Müllerov hormon (AMH) je dimerni glikoprotein koji pripada superoobitelji transformirajućih faktora rasta (TGF- β) (8,9). Kod muškaraca ga proizvode Sertolijeve stanice testisa te se smatra odgovornim za regresiju Müllerovih kanala tijekom razvoja muškog reproduktivnog sustava (10). Ekspresija AMH kod žena započinje već na kraju trećeg

trimestra trudnoće, a odvija se u granulosa stanicama preantralnih i malih antralnih folikula sve do veličine od 4 mm te prestaje kada folikul dosegne veličinu od 5 do 8 mm (11,12). AMH ima inhibicijski učinak na folikulogenezu jer onemogućava prijelaz folikula od primordijalnog do primarnog stadija (12,13). Smatra se „čuvarom“ ovarijske rezerve jer ograničava broj regrutiranih jajnih stanica i rastućih folikula te vrši selekciju dominantnog folikula za ovulaciju (11).

FSH smanjuje stvaranje AMH i ekspresiju njegovog receptora tipa II (AMHR2) u granulosa stanicama, dok AMH smanjuje osjetljivost folikula na FSH te je navedena negativna korelacija između FSH i AMH pokazana i eksperimentalno u nekoliko studija (8,14). Smatra se da AMH inhibira aktivnost aromataze i rast granulosa stanica te na taj način utječe na steroidogenezu (15-18).

Razine AMH se mogu mjeriti u serumu i u pozitivnoj su korelaciji s brojem malih antralnih folikula (AFC). Pri rođenju ih je teško detektirati, ali se za vrijeme puberteta povećavaju. Stabilne su tijekom reproduktivnog života, ali se smanjuju s dobi pa ga nije moguće identificirati u razdoblju nakon menopauze (13,19). Optimalne laboratorijske vrijednosti bi bile u rasponu 10 do 20 pmol/L (20). Žene sa sindromom policističnih jajnika (PCOS) imaju značajno povećanu razinu AMH zbog povećanog broja antralnih folikula, što može doprijeti anovulaciji (12,13). AMH se smatra najpouzdanijim biljegom ovarijske rezerve u kliničkoj dijagnostici u usporedbi s ostalim trenutno dostupnim biljezima jer se proizvodi u ranim stadijima razvoja folikula koje karakterizira rast neovisan o gonadotropinu, za razliku od inhibina B i estradiola koje proizvode folikuli u kasnijim stadijima razvoja te su ovisni o FSH (21).

U mnogim studijama istraživali su se brojni faktori koji mogu utjecati na serumske vrijednosti AMH. Među najznačajnijima navode se: dob, prekomjerna tjelesna težina, konzumiranje alkohola, pušenje, polimorfizam AMH i njegovog receptora, autoimune bolesti, PCOS, endometrioza, kirurške intervencije te primjena GnRH agonista. Utjecaj oralne hormonske kontracepcije (OHK) na AMH još uvijek ostaje kontroverzan (21).

1.3.2. Folikulostimulirajući hormon (FSH)

FSH je glikopeptidni dimer sastavljen od alfa i beta podjedinice. LH, TSH i hCG imaju istovjetnu alfa podjedinicu dok je beta podjedinica karakteristična za specifičnost pojedinog hormona. Sekreciju FSH iz bazofilnih stanica prednjeg režnja hipofize regulira gonadotropin oslobađajući hormon (GnRH), na čije izlučivanje iz hipotalamusa utječe povratna sprega estrogena, inhibina i aktivina. FSH stimulira rast i razvoj antralnih folikula u dominantne te proizvodnju estrogena u prvoj polovici menstrualnog ciklusa (22-24). Njegove vrijednosti određuju se 2. do 5. dan menstrualnog ciklusa, a povišene vrijednosti ukazuju na smanjenje ovarijske rezerve (22,25). Prema standardima Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) vrijednosti $FSH > 16,7$ predstavljaju visoku, $FSH > 11,4$ umjereno visoku i $FSH < 10$ mIU/mL normalnu razinu (24). Određivanje serumske vrijednosti FSH je jednostavno, ali je nedovoljno osjetljivo te se stoga preporučuje koristiti u kombinaciji s drugim pokazateljima, kao što su dob, AFC i AMH (5,26).

1.3.3. Estradiol (E2)

Estradiol je steroidni hormon koji nastaje aromatizacijom testosterona te je glavni hormon kojeg izlučuju jajnici. Odgovoran je za razvoj ženskog reproduktivnog sustava i uspostavljanje pravilnog menstrualnog ciklusa. U slobodnom obliku nalazi se u krvotoku u malim količinama dok se velikim afinitetom veže za α_2 -globulin, globulin koji veže spolne hormone (engl. *sex-hormone binding globulin* - *SHBG*), a slabijim afinitetom za albumin. Na taj se način transportira do ciljanih organa gdje njegova slobodna frakcija difundira u stanice i ostvaruje učinak (24,27). Određuje se obično 2. do 5. dan menstrualnog ciklusa. Povišene vrijednosti estradiola mogu maskirati abnormalne vrijednosti FSH-a, pri čemu povećane razine estradiola negativnom povratnom spregom sprječavaju izlučivanje FSH (24,25). Koncentracija estradiola manja od 20 pg/mL može biti u skladu sa smanjenom funkcijom jajnika (engl. *Diminished Ovarian Reserve* - *DOR*), hipogonadotropnim hipogonadizmom ili potpunim zatajenjem jajnika. Mnoge studije ukazuju kako za procjenu ovarijske rezerve, određivanje koncentracije estradiola nije niti dovoljno osjetljiva niti specifična metoda (24).

1.3.4. Broj antralnih folikula (engl. *antral follicle count* - AFC)

AFC se mjeri transvaginalnim ultrazvučnim pregledom u ranoj folikularnoj fazi i predstavlja zbroj folikula u oba jajnika, veličine 2-11 mm u promjeru (1,2,25). AFC se mjeri 2. do 5. dan menstrualnog ciklusa, a njegova optimalna vrijednost iznosi 8-10 (25). Smatra se da AFC ima najbolji potencijal predviđanja slabog odgovora jajnika u usporedbi s ukupnim volumenom jajnika i bazalnim serumskim razinama FSH, E2 i inhibina B (25). Preciznost mu se smanjuje kod pacijentica s prekomjernom tjelesnom težinom i pretilosti (28).

1.4. Oralna hormonska kontracepcija

Oralna hormonska kontracepcija predstavlja kombinaciju sintetskih estrogena i progesterona te se smatra najpouzdanijom metodom kontracepcije (27,29). Uvedena je prvi put u svijetu 1960. godine u SAD-u za kontrolu nepravilnih menstruacija i neplodnosti, a sadržavala je mestranol i noretisteron (29,30). Početne formulacije sadržavale su visoke koncentracije estrogena i progesterona te su kasnije pokazale brojne neželjene učinke poput kardiovaskularnih incidenata, dobivanja na težini, akni, nadutosti, što je dovodilo do nesuradljivosti pri primjeni (30). Tijekom godina, njihov sastav se modificirao postupnim snižavanjem doze najčešće korištenog estrogena, etinil estradiola (EE) sa 100 µg na 35 µg i niže, uvođenjem prirodnog 17β estradiola kao i mnogo različitih gestagena (29). Kombinacija estrogena i progesterona u pojedinačnoj tableti ne mora biti fiksna stoga postoje monofazični, bifazični ili trifazični oblici kombiniranih pripravaka (27). Od početka njihove primjene najučestaliji režim doziranja je 21/7 koji se sastoji od uzastopne primjene OHK tijekom 21 dana nakon kojeg slijedi sedmodnevna pauza uslijed koje nastupa krvarenje. Takav režim izabran je u nastojanju da se oponaša prirodni, fiziološki menstrualni ciklus. Međutim, istraživanja su pokazala da u intervalu bez hormona (engl. *hormone free interval* - HFI) dolazi do folikulogeneze tj. obnovljene funkcije jajnika i većih epizoda nuspojava. Kako bi se smanjile nuspojave, a poboljšala kontraceptivna učinkovitost i veća supresija funkcije jajnika, razvijeni su produljeni režimi doziranja 24/4, 26/2 i 84/7 te kontinuirani režim 365 (31,32).

1.4.1. Sastav

1.4.1.1. Estrogeni

Estradiol je najpotentniji endogeni estrogen, ali nakon peroralne primjene podliježe fenomenu prvog prolasku kroz jetru te se nedovoljno apsorbira i brzo metabolički razgradi (27). Stoga većina trenutno dostupnih OHK kao estrogensku komponentu sadrže sintetski etinil estradiol (EE) ili prirodni estradiol-valerat (E2V) (33,34).

Prvotne doze estrogena sadržavale su ≥ 50 μg EE te su bile povezane s velikim rizikom od venske i arterijske tromboembolije (34,35). Danas u Hrvatskoj nema registriranog monofazičnog kontraceptiva koji sadrži estrogen u koncentraciji većoj od 35 μg (Tablica 1) (36). Standardnim dozama smatraju se preparati koji sadrže 30 i 35 μg EE, a razvijene su i ultraniskodozirane formulacije od 20, 15 i 10 μg EE (34). Cilj terapije je spriječiti ovulaciju sa najmanjom mogućom dozom kako bi se smanjile nuspojave, a povećala učinkovitost, sigurnost i podnošljivost (33,35). S obzirom da je sastav i doza estrogena posljednjih godina relativno uniformna, na odabir prikladnog kontraceptiva utječe sastav progestinske komponente.

Tablica 1. Prikaz monofazičnih oralnih hormonskih kontraceptiva registriranih u Republici Hrvatskoj

Preparat registriran u RH	Doza i vrsta estrogena	Doza i vrsta gestagena
*Axira 35, Bellune 35, Diane 35	0,035 mg ethinylestradiolum	2 mg cyproteronum
Belara , Estal	0,030 mg ethinylestradiolum	2 mg chlormadinonum
Yasmin, Drospifem L, Midiana, Softine, Rosanne	0,030 mg ethinylestradiolum	3 mg drospirenonum
Lindynette	0,030 mg ethinylestradiolum	0,075 mg gestodenum
Adexa, Alaya	0,030 mg ethinylestradiolum	0,15 mg levonorgestrelum
Claxi, Mistra, Donella, Esylya	0,030 mg ethinylestradiolum	2 mg dienogestum
Adrienne, Daylette, Daylla, Drospifem S, Drospifem M, Rosanelle, Softinelle P, Yaz	0,020 mg ethinylestradiolum	3 mg drospirenonum

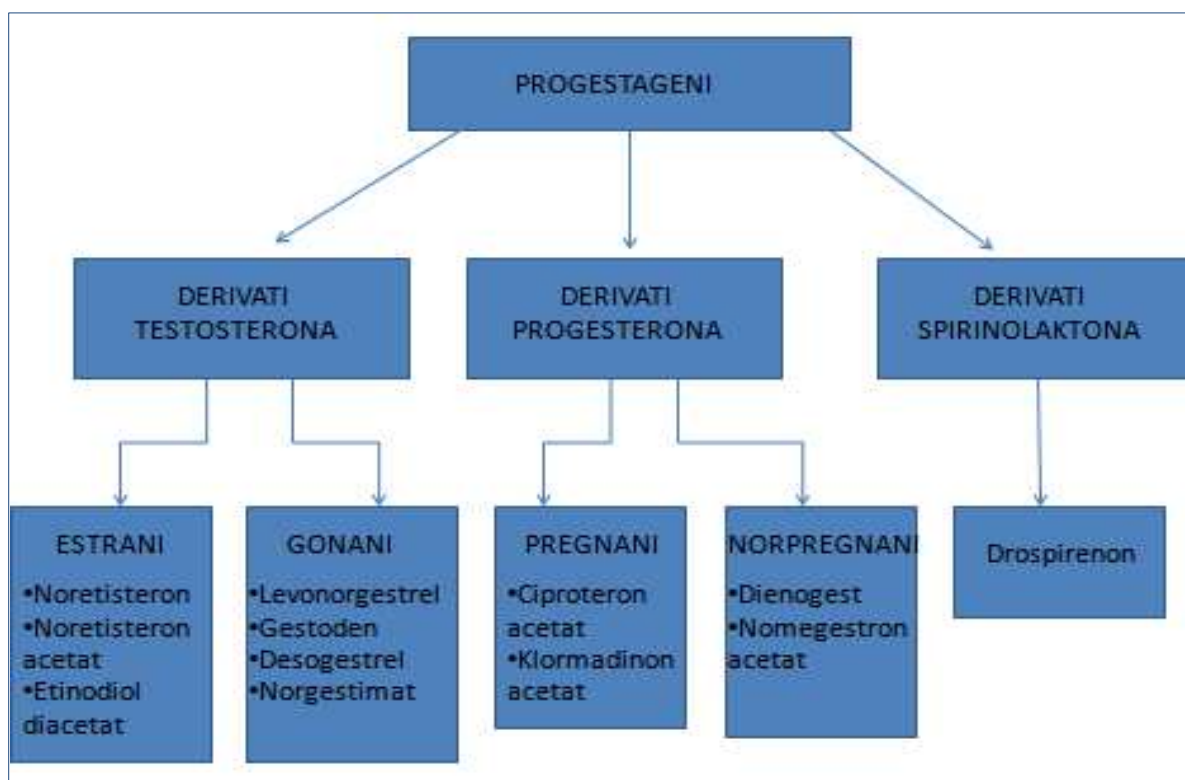
Preparat registriran u RH	Doza i vrsta estrogena	Doza i vrsta gestagena
Lindynette, Logest	0,020 mg ethinylestradiolum	0,075 mg gestodenum
Novynette	0,020 mg ethinylestradiolum	0,15 mg desogestrelum
Naelia, Yvellis	0,015 mg ethinylestradiolum	0,060 mg gestodenum
Zoely	1,5 mg 7 β -estradiol	2,5 mg norgestrol acetate

Preuzeto s Halmed, <http://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/#rezultati> (pristup 18.10.2018).

*indikacija: idiopatski hirzutizam uz dismenoreju u žena generativne dobi, po preporuci specijalista endokrinologa i ginekologa i ozbiljne akne koje ne reagiraju na antimikrobnu terapiju, po preporuci specijalista dermatologa. (<http://www.hzzo.hr/zdravstveni-sustav-rh/trazilica-za-lijekove-s-vazecih-lista/>)

1.4.1.2. Gestageni (progestini)

OHK se tradicionalno razvrstavaju prema generaciji, što se odnosi na vrijeme izlaska na tržište, no Svjetska zdravstvena organizacija ne priznaje takvu klasifikaciju stoga bi se gestageni trebali razvrstavati prema strukturi i farmakološkom učinku (34). Stariji progestini koji pripadaju prvoj generaciji odobreni su prije 1970-ih. Predstavnici prve generacije su noretisteron i etinodiol diacetat, a izvedeni su iz testosterona te se nazivaju derivati 19-nortestosterona. Njihove nuspojave poput akni, masne kože i smanjenja lipoproteina visoke gustoće (HDL), uglavnom zbog vezanja za androgenske receptore različitim afinitetima, glavni su uzrok njihovog progresivnog povlačenja. Norgestrel i levonorgestrel pripadaju drugoj generaciji, dok su norgestimat, gestoden, desogestrel, ciproteron acetat i klormadinon acetat predstavnici treće generacije OHK. Progestini treće generacije imaju veći afinitet za progesteronske receptore i stoga manje androgenih učinaka. S ciljem potpune eliminacije androgenih nuspojava, u posljednjih nekoliko desetljeća sintetizirani su dienogest, norgestrol i drospirenol koji pripadaju četvrtoj generaciji OHK. Slika 1 prikazuje podjelu progestina prema strukturi i farmakologiji (34). Derivati progesterona ne pokazuju androgeno, estrogeno ni glukokortikoidno djelovanje. Ciproteron acetat ima najsnažniji antiandrogeni učinak i danas je terapija izbora kod pacijentica s izraženim hiperandrogenizmom (29,33). Drospirenol je jedini derivat spiroketalona u uporabi te odražava antiandrogena svojstva progesterona bez androgene, estrogenske, glukokortikoidne ili antiglukokortikoidne aktivnosti. Njegov afinitet za mineralokortikoidni receptor je pet puta veći od afiniteta samog aldosterona (37). Antiandrogeni potencijal dienogesta i drospirenona je približno 30 i 40 % potentnosti ciproteron acetata (33).



Slika 1. Podjela progestina prema kemijskoj strukturi i farmakološkom učinku

Prema izvornoj tablici : Pavičić Baldani D. Individualni odabir hormonske kontracepcije. U: Pavičić Baldani D, Šimunić V. Odabrana poglavlja hormonske kontracepcije. Zagreb: Pliva Hrvatska; 2016. str. 14-35.

1.4.2. Mehanizam djelovanja

Oralni hormonski kontraceptivi svoj učinak ostvaruju inhibicijom sinteze i sekrecije GnRH na razini hipotalamusa. Estrogenska komponenta sprječava odabir i razvoj dominantnog folikula supresijom FSH tijekom folikularne faze dok progestini inhibiraju pulsirajuće izlučivanje LH čime se suzbija pojava LH vala. Navedeni centralni učinci u konačnici dovode do inhibicije ovulacije (33,35). Periferno djelovanje ostvaruju mijenjanjem cervikalne sluzi, sluznice endometrija te funkcije jajnika. Progestinska komponenta dovodi do stanjenja i atrofije sluznice endometrija te povećava viskoznost cervikalne sluzi koja postaje gušća i oskudnija čime se stvaraju nepovoljni uvjeti za prodiranje spermija i implantaciju (27,33,34). Također, smanjuju kontraktilnost glatke muskulature i ometaju transport jajnih stanica i spermija u jajovodima (35). Estrogenska komponenta regulira proliferaciju endometrija i kompenzira estrogenski nedostatak induciran antagonotrofnim učinkom

progestina te smanjuje pojavnost nepravilnih krvarenja (29,34). Krvarenja su često manje bolna jer se pod utjecajem OHK reducira vaskularizacija te se stvara manje uterotonika i vazoaktivnih prostaglandina (34,38).

OHK dovodi i do sustavnih promjena u metabolizmu masti, vitamina, ugljikohidrata, utječe na dojku, jetru i koagulacijski mehanizam te na kardiovaskularni, endokrini i središnji živčani sustav (27,39). Metabolički učinci estrogena regulirani su tipom gestagena koji se koristi pa se estrogenski učinak na jetrene enzime i faktore zgrušavanja smanjuje primjenom antiandrogenih gestagena (33). Estrogeni povećavaju broj progesteronskih receptora što je omogućilo korištenje mnogo manje doze gestagenske komponente u pojedinom oralnom hormonskom preparatu (34). Gestageni se, osim vezanja za progesteronski receptor, mogu vezati i za druge steroidne receptore, androgene, mineralokortikoidne i glukokortikoidne, te dovoditi do nastanka akni, masne kože, zadržavanja vode i drugih sistemskih nuspojava (Tablica 2) (34).

Tablica 2. Učinak gestagena (posljedica afiniteta za pojedinu vrstu receptora)

	Androgeni	Anti-androgeni	Anti-mineralokortikodini	Glukokortikodni
Levonorgestrel	+	–	–	–
Gestoden	(+)	–	(+)	–
Desogestrel	(+)	–	–	–
Ciproteron acetat	–	+	–	(+)
Klormadinon acetat	–	+	–	–
Drospirenon	–	+	+	–
Dienogest	–	+	–	–
Nomegestrol acetat	–	(+)	–	–

+ = jak farmakološki učinak

(+) = slab farmakološki učinak

– = nema farmakološkog učinka

Prema izvornoj tablici: Pavičić Baldani D. Individualni odabir hormonske kontracepcije. U: Pavičić Baldani D, Šimunić V. Odabrana poglavlja hormonske kontracepcije. Zagreb: Pliva Hrvatska; 2016. str. 14-35.

1.4.3. Indikacije za korištenje i povoljni učinci

Oralna hormonska kontracepcija osim sprječavanja začeća, ima brojne nekontracepcijske benefite kao i terapijske učinke za navedene indikacije:

- **Dismenoreja** - definirana kao jaka bol za vrijeme menstruacije koja uzrokuje fizičku nelagodu i ima psihosocijalni učinak (37). Bol uzrokuje oslobađanje prostaglandina, što dovodi do porasta aktivnosti miometrija (40). OHK smanjuje debljinu i sazrijevanje endometrija kao i menstrualni protok te ometa djelovanje enzima ciklooksigenaze čime smanjuje proizvodnju prostaglandina (37).
- **Kontrola menstrualnog ciklusa i menoragija** – 10 % plodnih žena pati od menoragija, što je definirano kao menstrualni gubitak krvi veći od 80 ml te se prevalencija menoragije povećava s povećanjem dobi (40). Pod utjecajem OHK menstrualni ciklus postaje redovit i predvidiv te se smanjuje prekomjerni gubitak krvi koji može dovesti do anemije i nedostatka željeza (40,41).
- **Endometrioza** - definirana kao prisutnost tkiva endometrija izvan tijela maternice što uzrokuje bol (42). OHK je jedina terapija koja omogućuje redovito mjesečno krvarenje (40). Terapija smanjuje proliferaciju endometrija, nepravilno ljuštenje sluznice te širenje ektopičnog tkiva u okolna područja. Navedenim učincima OHK prevenira se donekle i nastanak mioma (42).
- **Predmenstrualni sindrom** – „cikličko“ ponavljanje tjeskobnih, psiholoških i/ili bihevioralnih promjena u lutealnoj fazi menstrualnog ciklusa koje dovodi do nemogućnosti obavljanja svakodnevnih aktivnosti (43). OHK su pokazali smanjenje navedenih simptoma, a najbolji učinak ostvaruje se primjenom drospirenona koji svojim antimineralokortikoidnim svojstvima inhibira zadržavanje vode te osjećaj napuhnutosti i težine (37).
- **Hiperandrogenizam** - može se manifestirati hirzuitizmom, aknama i alopecijom. Liječenje je fokusirano na smanjenje proizvodnje androgena i redukciju cirkulirajućih androgena u krvi te ograničavanje njihove aktivnosti u pilosebacealnim jedinicama (37). Kombinacije estrogena i progestina suprimiraju sekreciju LH pa se manje androgena stvara u teka stanicama jajnika. EE, najčešće korišten estrogen u OHK, povećava vrijednosti SHBG u serumu i tako smanjuje razinu slobodnog testosterona i androgena u plazmi. Isti učinak pospješuju gestageni treće i četvrte generacije (37,44). Samo kontraceptivi s antiandrogenim progestinima (ciproteron acetat, klormadinon acetat ili drospirenon) inhibiraju androgene receptore i smanjuju perifernu aktivnost

enzima 5- α -reduktaze, odgovornog za konverziju testosterona u dihidrotestosteron (37,45). Istraživanja su pokazala da najsnažnije antiandrogeno djelovanje ostvaruje ciproteron acetat te je on terapija izbora kod hiperandrogenih stanja (40,46,47).

- **Sindrom policističnih jajnika (PCOS)** - OHK su prvi izbor u kroničnom liječenju PCOS-a i to prvenstveno niskodozirane formulacije uključujući progestine s neutralnim ili antiandrogenim djelovanjem (33). OHK reguliraju menstrualni ciklus, korigiraju anovulaciju, inhibiraju folikulogenezu i nastanak ovarijskih cista te smanjuju veličinu jajnika (37,39). Njihovom primjenom uspostavlja se ravnoteža između estrogena i progesterona u endometriju te se prevenira nastanak hiperplazije endometrija i razvoj karcinoma, od kojeg pacijentice s PCOS-om imaju rizik s obzirom na abnormalne koncentracije hormona (6,33).
- **Ostali učinci** - OHK smanjuju rizik razvoja raka jajnika, endometrija i debelog crijeva te benignih bolesti dojke. Smanjena je incidencija ektopične trudnoće, zdjeličnih upala te razvoja reumatoidnog artritisa (27,40). Dugotrajnom primjenom OHK pridonosi očuvanju mineralne gustoće kostiju i prevenciji osteoporoze osobito kod mladih pacijentica i onih u premenopauzi (48).

1.4.4. Kontraindikacije za primjenu OHK

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) izradila je smjernice i klasifikaciju medicinskih stanja te relativne i apsolutne kontraindikacije za primjenu oralnih hormonskih kontraceptiva (Tablica 3) (49).

Tablica 3. Smjernice za primjenu OHK i klasifikacija stanja u kategorije prema SZO

KATEGORIJA 1 -nema ograničenja za korištenje oralnih kontraceptiva	anamneza gestacijskog dijabetesa, varikozne vene, blage glavobolje, anamneza zdjelične upalne bolesti, spolno prenosive bolesti, vaginitis, benigna bolest dojke, obiteljska anamneza karcinoma dojke, endometrija ili jajnika, hepatitis, miomi, anamneza ektopične trudnoće, pretilost, bolesti štitnjače.
KATEGORIJA 2 -stanja u kojih prednosti od korištenja oralnih kontraceptiva	pojava jakih glavobolja nakon početka primjene oralne hormonske kontracepcije, dijabetes bez vaskularnih komplikacija, krvni tlak od 140/100 do 159/109,

nadmašuju teoretski ili dokazani rizik	karcinom cerviksa, obiteljska anamneza hiperlipidemije i infarkta miokarda, starost veća od 40 godina.
KATEGORIJA 3 - RELATIVNE KONTRAINDIKACIJE - stanja u kojih teoretski ili dokazani rizici nadmašuju prednosti uzimanja oralnih kontraceptiva	period <3 tjedna nakon poroda, dojenje, pušenje <15 cigareta dnevno i migrene kod žena starijih od 35 godina, preboljeli karcinom dojke bez povrata bolesti zadnjih 5 godina, korištenje drugih lijekova koji mogu pojačati ili smanjiti djelovanje oralne hormonske kontracepcije, postojanje žučnih kamenaca, ITM>35 kg/m ² , nerazjašnjeno krvarenje iz genitalnih organa.
KATEGORIJA 4 – APSOLUTNE KONTRAINDIKACIJE -stanja neprihvatljivog zdravstvenog rizika uz oralne kontraceptive	tromboembolijske i cerebrovaskularne bolesti, infarkt miokarda, migrena s neurološkim simptomima, kongenitalna hiperlipidemija, nedijagnosticirana krvarenja, oštećenja jetrenih funkcija, o estrogenima ovisne neoplazme, dijagnosticiran ili sumnja na karcinom dojke, trudnoća, dojenje kraće od 6 tjedana nakon poroda, dijabetes s nefropatijom, neuropatijom ili retinopatijom.
Preuzeto s: https://www.who.int/reproductivehealth/publications/family_planning/MEC-5/en/ (pristup 18.10.2018)	

1.4.5. Nuspojave OHK

U početku primjene OHK-a česte su blage nuspojave poput mučnine, boli u dojkama, probojnih krvarenja, edema, glavobolja koje se najčešće smanjuju s nastavkom primjene (27,50). One mogu biti povezane s vrstom i dozom estrogena i progestina te se pravilnim odabirom OHK učestalost nuspojava može znatno umanjiti (51). Probojna krvarenja (engl. *spotting*) su najčešća nuspojava u prva 3 mjeseca korištenja te se javljaju u 10 do 30 % pacijentica (34,51). Češće ih uzrokuju ultranisko dozirani kontraceptivi te je krvarenje od 1. do 9. dana ciklusa povezano s estrogenskim manjkom, dok progestinski manjak karakterizira krvarenje od 10. do 21. dana ciklusa. Pacijentice je važno upozoriti da su probojna krvarenja uobičajena u prvim mjesecima korištenja OHK zbog prilagodbe sluznice endometrija na gestagene te da njihova pojavnost ne umanjuje kontracepcijski učinak (34). Učestalija su u novih korisnica te kod žena koje konzumiraju duhan ili imaju klamidijsku infekciju, a rjeđa su kod primjene bifazičnih i trifazičnih kontraceptiva (27,34). Ukoliko perzistiraju i nakon tri

mjeseca potrebno je terapijski intervenirati zbog potencijalno neodgovarajuće doze ili oblika OHK (34,51). Amenoreja ili izostanak krvarenja može nastati zbog preniske doze estrogena u formulacijama (37). Povećanje tjelesne težine mogu uzrokovati gestageni s androgenim učinkom ili estrogeni koji uzrokuju zadržavanje tekućine. Stoga se kod tih pacijentica savjetuje primjena ultranisko doziranih oblika koji uključuju gestagene s antiandrogenim i antimineralokortikoidnim djelovanjem (27,34). Ultranisko dozirane formulacije preporučuju se i kod pacijentica s mastodinijom, glavoboljom i predmenstrualnom mučninom jer su navedene nuspojave posljedica visoke doze estrogena (34,37). Brojna istraživanja su pokazala da glavobolju i migrenu uzrokuje pad estrogena u periodu bez OHK (engl. *hormon free interval* - HFI) te se kod tih pacijentica savjetuje primjena kontraceptiva s kraćim HFI intervalom ili produljena kontracepcija (34,52).

Gestagenska komponenta utječe na razvoj akni, masne kože i hirzutizma pa je u tim slučajevima preporuka koristiti gestagene s antiandrogenim djelovanjem (37,45). Promjene raspoloženja, depresija i razdražljivost najizraženije su u HFI razdoblju koje se kod pacijentica s navedenim simptomima nastoji skratiti produljenim uzimanjem OHK ili izborom OHK s klormadinon acetatom ili drospirenonom koji su pokazali pozitivne učinke na emocionalni status (27,53,54). Tijekom primjene OHK moguće je smanjenje spolne želje, a kod ultranisko doziranih preparata zapažena je i suhoće rodnice kao i smanjena lubrikacija (34,50). Incidencija vaginalnih infekcija je veća tijekom primjene OHK te su kompliciranije za liječenje (27).

Najznačajnije nuspojave primjene OHK su povezane s kardiovaskularnim sustavom, a odnose se na rizik od venske i arterijske tromboembolije (41). Venska tromboembolija (VTE) manifestira se kao duboka venska tromboza, plućna embolija ili tromboza drugih vena, dok se arterijska tromboembolija (ATE) odnosi na infarkt miokarda i moždani udar. Pri kontroli rizika za vensku trombozu treba uzeti u obzir nasljedne i stečene čimbenike čiji se utjecaj povećava s primjenom OHK. Trombofilije su najčešće inherentne, poput urođenog deficita antitrombina, proteina C ili proteina S, ali mogu biti i stečene (antifosfolipidni sindrom). Od ostalih stečenih čimbenika važno je izdvojiti: dob, debljinu, konzumiranje duhana ili opojnih sredstava, imobilizaciju, operacije te dodatne komorbiditete i komedikaciju (55).

Estrogeni u OHK imaju prokoagulacijski učinak jer povećavaju koncentracije faktora zgrušavanja u plazmi i potiču agregaciju trombocita (51,55,56). Rizik od VTE ovisi o dozi

najčešćeg estrogena, etinil estradiola (EE). Visoka doza EE ($>50 \mu\text{g}$) povezana je s dvostrukim povećanjem rizika od VTE u usporedbi s malom dozom ($<50 \mu\text{g}$) (57-59). U početku se smatralo da je samo doza estrogena ključna za razvoj tromboze no istraživanja su pokazala da gestageni III. i IV. generacije stimuliraju proizvodnju faktora zgrušavanja više od gestagena druge generacije (60-62). Kontraceptivi s desogestrelom, gestodonom, drospirenonom i ciproteron acetatom imaju antiandrogeni i bolji metabolički učinak. Novije studije tvrde da one u odnosu na II. generaciju pokazuju statistički beznačajno viši rizik za venske tromboze, ali dvostruko niži rizik za infarkt miokarda (51). Pacijentice kod kojih je primjena estrogena kontraindicirana (venska tromboembolija, pušenje, starija životna dob, bolest jetre, hipertenzija) mogu primjenjivati samo progesteronske formulacije koje se sastoje od niskih doza gestagena. One imaju vrlo malo utjecaja na koagulacijski sustav i ne povećavaju rizik za kardiovaskularne incidente (27,56).

Rizik za ATE je vrlo nizak u mlađih i zdravih žena te se povećava samo onda kada se OHK neindikirano koristi, a izravno je povezan s dozom estrogenske komponente (51,56). Istraživanja pokazuju da pacijentice koje imaju migrenozne napadaje s aurom ne bi trebale koristiti OHK jer su pod dvostruko većim rizikom od moždanog udara u usporedbi s pacijenticama koje imaju migrenozne napadaje bez aure (63).

Gestageni u OHK povećavaju razinu serumskog LDL-a, a smanjuju razinu serumskog HDL-a dok je djelovanje estrogena suprotno (41). Etinil estradiol može dovesti i do razvoja hipertenzije jer u jetri inhibira proizvodnju enzima angiotenzinaza (56). Najveći rizik navedenih kardiovaskularnih incidenata je tijekom prvih nekoliko mjeseci primjene OHK te se nakon prestanka primjene vraća na normalne vrijednosti (27).

Za vrijeme primjene OHK zabilježena je veća incidencija karcinoma cerviksa, ali isključivo kod pacijentica s HPV infekcijom, nakon dugotrajne uporabe. Povećana je incidencija adenoma jetre i hepatocelularnih karcinoma te žučnih kamenaca (27,41). Utjecaj OHK na razvoj raka dojke još uvijek nije definiran te su rezultati istraživanja oprečni. Neka istraživanja pokazuju jako malen rizik koji nestaje 5 do 10 godina nakon prestanka primjene OHK (64-66). Druge studije pokazuju kako OHK uopće ne povećava rizik za razvoj raka dojke (67,68). Meta-analiza iz 2013.godine utvrdila je povećan rizik za razvoj raka dojke povezan s nedavnom uporabom OHK, ali nije pokazala utjecaj duljine primjene (64). Većina

studija dolazi do zaključka kako je rizik za razvoj raka dojke kod mladih i zdravih žena nizak te se OHK može sigurno primjenjivati (41).

1.5. Sindrom policističnih jajnika

1.5.1. Definicija

Sindrom policističnih jajnika (engl. *Polycystic Ovary Syndrome* - PCOS), također nazvan hiperandrogenizam jajnika ili hiperandrogena anovulacija, predstavlja skup simptoma koji uključuju: poremećaje menstrualnog ciklusa u obliku oligo/anovulacije, hiperandrogenizma i/ili hiperandrogenemije te morfološkog izgleda policističnih jajnika (69-71). Ovo heterogeno stanje, nejasne etiologije i iznimno komplicirane patofiziologije, smatra se najučestalijim endokrinološkim poremećajem žena u reproduktivnoj dobi širom svijeta (14,70,71).

1.5.2. Dijagnosticiranje i prevalencija

Istraživanje iz 2017. godine procjenjuje učestalost obolijevanja od 15 % prema međunarodno preporučenim Rotterdamskim kriterijima koji se primjenjuju i u Hrvatskoj (7,69). Međutim, u postavljanju dijagnoze PCOS-a koriste se tri vrste dijagnostičkih kriterija: NIH (engl. *US National Institute of Health*) kriteriji, Rotterdamski kriteriji te najnoviji AES (engl. *Androgen Excess i PCOS Society*) kriteriji. Navedeni kriteriji i njihova obilježja prikazani su u Tablici 4 (72).

Tablica 4. Dijagnostički kriteriji za postavljanje dijagnoze PCOS-a

Kriteriji	Obilježja
NIH	1. kronična anovulacija 2. klinički hiperandrogenizam i/ili biokemijski potvrđena hiperandrogenemija 3. isključenje bolesti koje se slično manifestiraju
ROTTERDAM	1. oligo/anovulacija 2. klinički i/ili biokemijski znakovi hiperandrogenizma i/ili hiperandrogenemija 3. UZV dokaz policističnih jajnika Uvjet: postojanje 2 od 3 kriterija nakon isključenja bolesti koje se slično manifestiraju
AES	1. ovarijska disfunkcija (oligo/anovulacija i/ili UZV dokaz policističnih jajnika) 2. klinički i/ili biokemijski znakovi hiperandrogenizma (hirzuitizam/hiperandrogenemija) 3. isključenje bolesti koje se slično manifestiraju

Preuzeto iz: Pavičić Baldani. Kronične anovulacije – Sindrom policističnih jajnika. U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 275-96.

Iz tabličnog prikaza vidljivo je da, prije donošenja dijagnoze PCOS-a, sva tri dijagnostička kriterija naglašavaju isključivanje srodnih poremećaja koji se slično manifestiraju, a kojima pripadaju: neklasična kongenitalna adrenalna hiperplazija, tumori jajnika i nadbubrežne žlijezde koji luče androgene, Cushingov sindrom, hipotalamička amenoreja, akromegalija, oboljenja štitnjače, hiperprolaktinemija, inzulinska i glukokortikoidna rezistencija te uporaba lijekova anaboličkog ili androgenog djelovanja (7,72,73). Osim dijagnostičkih kriterija potrebna je i pažljiva klinička procjena osobne i obiteljske anamneze, popratnih komorbiditeta, fizikalni i ultrazvučni pregled te laboratorijske pretrage (7,70).

Poremećaj jajnika u žena s PCOS-om karakterizira zastoj sazrijevanja folikula i poremećena selekcija dominantnog folikula. Prema tome, u PCOS-u su zabilježene dva do tri puta veće koncentracije AMH u serumu, što izravno odražava povećan broj malih antralnih

folikula. Uzrok povećanih koncentracija AMH u antralnim folikulima u PCOS-u je trenutačno nepoznat međutim, postoje dokazi koji podupiru prekomjernu proizvodnju androgena kao pozitivnu korelaciju s vrijednostima AMH u serumu. Štoviše, mnoge studije predviđaju kako bi AMH mogao zamijeniti značajke hiperandrogenizma ili anovulacije pri dijagnosticiranju PCOS-a (2,14,21,73).

Incidencija obolijevanja od PCOS-a povećana je kod pacijentica s prekomjernom tjelesnom težinom, inzulinskom rezistencijom, dijabetesom tipa 1 ili 2 te gestacijskim dijabetesom, anovulacijama, dijagnosticiranom neplodnosti, preranom menarhom i pubarhom te prisutnom dijagnozom PCOS-a u obiteljskoj anamnezi. Učestalost u perimenopauzi je 10 % dok je u adolescentnih djevojaka oko 25 % (7).

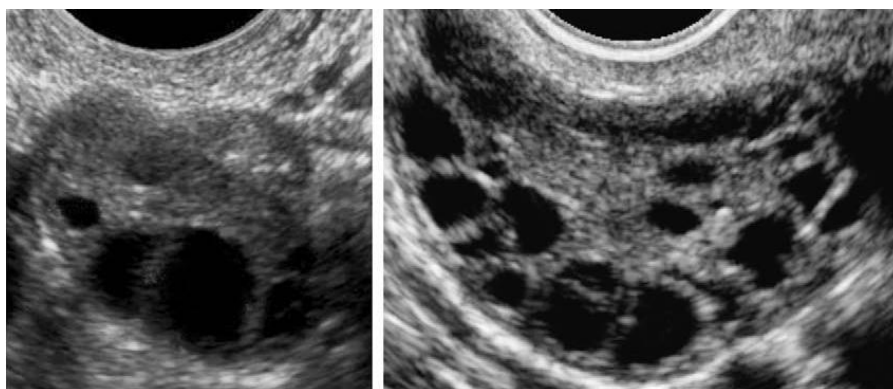
1.5.3. Klinička slika

1.5.3.1. Oligo/anovulacija

Simptomi oligo/anovulacije manifestiraju se u obliku oligoamenoreje ili amenoreje. Oligoamenoreja predstavlja trajanje ciklusa dulje od 35 dana ili prisutnost manje od 8 menstrualnih ciklusa godišnje, a amenoreja označava odsutnost menstruacije dulje od 3 mjeseca bez trudnoće. Međutim, moguća je prisutnost subkliničke anovulacije i kod pacijentica s urednim menstrualnim ciklusom što se dokazuje niskim vrijednostima progesterona izmjerenim između 22. i 24. dana ciklusa. Kod pacijentica s kroničnom anovulacijom potrebno je određivanje luteinizirajućeg hormona (LH) i prolaktina (PRL) u serumu radi isključivanja bolesti hipotalamusa i hipofize (73).

1.5.3.2. Ultrazvučni ‘izgled’ policističnih jajnika

Na temelju transvaginalnog ultrazvuka dijagnoza PCOS-a postavlja se ako je prisutno 12 ili više folikula promjera 2-9 mm u oba jajnika te ako je povećan volumen jajnika ($>10 \text{ m}^3$) (Slika 2) (73). Dijagnoza se može postaviti ako su navedene karakteristike prisutne i u samo jednom jajniku. Broj folikula i volumen jajnika smatraju se karakterističnim i konzistentnim osobinama PCOS-a (7,70,73).



Slika 2. Normalan i policistični jajnik prikazan transvaginalnim ultrazvukom tijekom folikularne faze menstrualnog ciklusa

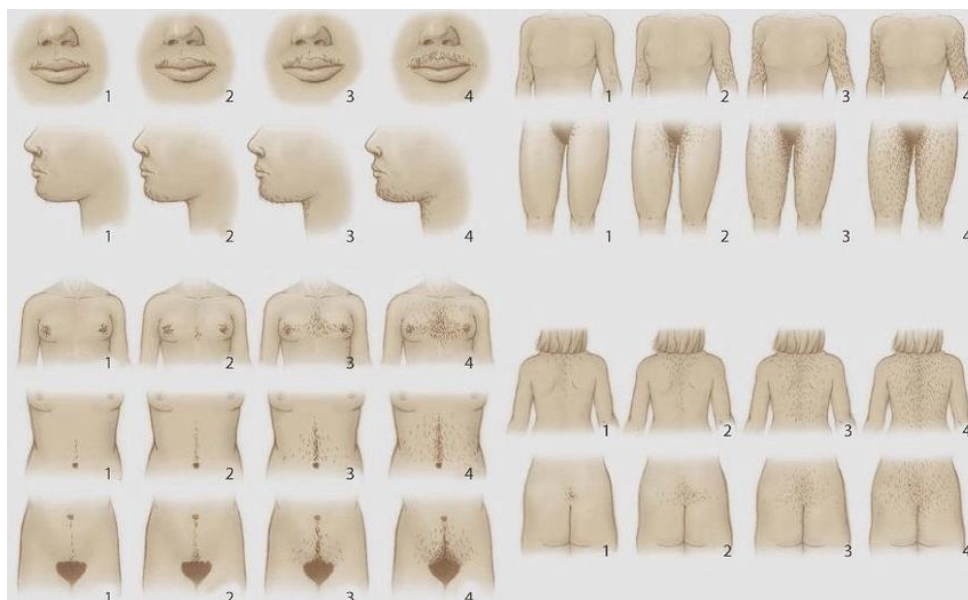
Preuzeto iz : Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. Lancet. 2007 Aug 25;370(9588):685-97.

Procjena policističnih jajnika trebala bi se temeljiti na ultrazvučnom pregledu (volumen jajnika i AFC), prisutnosti oligomenoreje i/ili biokemijskim dokazima oligo/anovulacije. Otežanom postavljanju dijagnoze kod adolescentica pogoduje činjenica da su mnoge osobine PCOS-a, uključujući akne, pojačanu dlakavost tijela te menstrualne nepravilnosti uobičajene u normalnom pubertetu. Menstrualne nepravilnosti s anovulacijskim ciklusima i različitim duljinama ciklusa smatraju se normalnim tijekom 2 do 3 godine nakon prve menstruacije tzv. menarhe zbog nedovoljne zrelosti osovine hipotalamus-hipofiza-jajnik (70,73).

1.5.3.3. Hiperandrogenizam/hiperandrogenemija

Hiperandrogenizam je najistaknutija dijagnostička komponenta sindroma policističnih jajnika koja ovisi o etničkom podrijetlu, tjelesnoj težini i dobi. Klinički se dijagnosticira subjektivnom procjenom kožnih manifestacija prekomjerne aktivnosti androgena, kao što su hirzuitizam, akne (češće u mladih žena) i androgena alopecija (češća u starijih žena). Od ovih simptoma hirzuitizam je najčešći te je prisutan u oko 60 % žena s PCOS-om. U neoplastičnim oboljenjima hirzuitizam nastaje brzo te je obično povezan s klitoromegalijom i oligomenorejom dok se u PCOS-u razvija postupno te se brže manifestira povećanjem tjelesne težine. Definiran je kao povećani rast terminalnih dlaka prema muškom načinu raspodjele te se dijagnosticira Ferriman-Gallweyevom skalom, koja na 9 točno određenih mjesta određuje težinu hirzuitizma bodovima 1-4 (Slika 3) (73). Oblik gubitka kose

varijabilan je kod žena s hiperandrogenemijom te je tipičan gubitak kose na vertexu i difuzno, dok se u težim oblicima hiperandrogenemije može vidjeti frontalni i bitemporalni gubitak. Dokazano je da djevojke s teškim aknama ili aknama otpornim na oralnu i lokalnu terapiju uključujući i izotretinoin mogu imati 40 % vjerojatnosti razvoja PCOS-a. Težina akni ocjenjuje se prema Cunliffu, a androgena alopecija pema Ludwigovoj skali (7,70,73).



Slika 3. Ferriman-Gallwey skala

Preuzeto s : <https://www.researchgate.net/publication/300852952>

Hiperandrogenemiju je potrebno utvrditi i biokemijski što podrazumijeva mjerenje ukupnog testosterona u serumu (T) i proteina koji veže spolne hormone (engl. *sex hormone binding protein - SHBG*). Danas se određuju i koncentracije slobodnog testosterona u serumu jer su za utvrđivanje androgenog suviška metode njegovog određivanja osjetljivije od mjerenja ukupnog testosterona. U pacijentica s PCOS-om obično su povišene i koncentracije ostalih androgena u serumu poput androstendiona ili adrenalnog dehidroepiandrosteron sulfata (DHEAS) (7,70,73).

1.5.4. Etiologija i patofiziologija

Za PCOS je karakterističan povećan broj folikula u svim fazama razvoja te je stoga PCOS gotovo sigurno genski uvjetovam, no točni mehanizmi promjene funkcije jajnika i

uzrok anovulacije ostaju nepoznati (14). Postojanje velike raznolikosti u fenotipovima ukazuje na to da su okolišni čimbenici, od kojih je vrlo značajan utjecaj prehrane, relevantni za nastanak PCOS-a (7). Vjeruje se da nekontrolirana steroidogeneza u jajnicima i inzulinska rezistencija imaju važnu ulogu u patogenezi PCOS-a (7,73). Međutim, mehanizam kojim inzulinska rezistencija ili inzulin dovode do oligomenoreje i hiperandrogenemije, nije sasvim jasan (71). Smatra se da prevladavanje serinske fosforilacije povećava vrijednosti inzulina, smanjuje odgovor stanice na inzulin i dovodi do povećane produkcije androgena (7,73). Studije su pokazale da i pretili i mršave žene s PCOS-om imaju određeni stupanj inzulinske rezistencije koja je uključena u ovulacijsku disfunkciju PCOS-a ometanjem povratne sprege hipotalamus-hipofiza-jajnik (71,74). Zbog poremećaja unutarstaničnih signalnih puteva i povećane aktivnosti steroidnih enzima dolazi do povećane produkcije androgena u teka stanicama jajnika i posljedično tome do rasta velikog broja malih, antralnih folikula te folikularnog aresta. Neuroendokrinološki poremećaji, endokrinologija masnog tkiva i interakcije brojnih hormona upleteni su u patogenezu ovog poremećaja. Povišena razina AMH inhibira FSH te se smanjuje aktivnost aromataze što dovodi do zastoja rasta folikula i anovulacije. Na LH potaknuto stvaranje androgena utječu previše eksprimiran inhibin A te povećanje pulsatilnosti GnRH zbog niskih vrijednosti progesterona (7,73). S obzirom na povezanost s inzulinskom rezistencijom, svim ženama s PCOS-om potrebno je napraviti procjenu rizika od metaboličkog sindroma i njegovih komponenti, uključujući dijabetes tipa 2, hipertenziju, hiperlipidemiju i mogući rizik od venskih tromboembolija, akutnog infarkta miokarda i moždanog udara (71,73,74).

1.5.5. Terapija i posljedice

Pravovremeno i točno dijagnosticiranje PCOS-a utječe na vjerojatnost povezanih metaboličkih i kardiovaskularnih rizika i dovodi do odgovarajuće terapije ovisno o dobi žene, reproduktivnom statusu i dodatnim komorbiditetima. Osim već spomenutog rizika od metaboličkog sindroma, pacijentice oboljele od PCOS-a imaju veću incidenciju razvoja hiperplazije i raka endometrija, depresije, apneje u snu, masne jetre, rađanja carskim rezom te veću predispoziciju razvoja komplikacija u trudnoći poput spontanih pobačaja i preeklampsije ili razvoja gestacijskog dijabetesa (7,73).

Liječenje žena s PCOS-om ima za cilj očuvati reproduktivne funkcije kao i brigu o hirzuitizmu, alopeciji i aknama, a terapija uključuje nefarmakološke i farmakološke pristupe.

Gubitak tjelesne težine je primarna terapija u PCOS-u jer smanjenje tjelesne težine od čak 5 % može regulirati menstrualni ciklus, smanjiti inzulinsku rezistenciju i poboljšati odgovor na lijekove koji stimuliraju ovulaciju (71). Redukcijom masnog tkiva smanjuje se koncentracija testosterona, a povećava koncentracija SHBG pa se smanjuje androgeni učinak. Od nefarmakoloških mjera važno je istaknuti umjerenu fizičku aktivnosti, redukciju kalorijskog unosa te izbor nutritivno kvalitetnijih namirnica (73).

Simptomi hiperandrogenizma prvenstveno se liječe dermatološkim tretmanima. Akne se tretiraju topikalnim kremama s retionidima, androgena alopecija 2-5 % topikalnim minoksidilom, a hirzuitizam laserskom elektrolizom u kombinaciji s kremama koje usporavaju rast dlačica (73). Oralni hormonski kontraceptivi se smatraju prvom linijom liječenja u regulaciji neredovitih menstrualnih ciklusa, prevenciji hiperplazije endometrija i tretiranju hiperandrogenizma. U suzbijanju androgenog učinka najučinkovitiji su antiandrogeni gestageni (ciproteron acetat, klormadinon acetat, drospirenon, dienogest). Svi OHK smanjuju vrijednosti LH i povećavaju hepatičku sintezu SHBG dok isključivo navedeni antiandrogeni gestageni smanjuju aktivnost enzima 5- α -reduktaze i blokiraju androgene receptore (7,73). U pacijentica kod kojih je kontraindicirana primjena OHK, terapija izbora je ciklička primjena gestagena (7). S obzirom da je inzulinska rezistencija patofiziološka podloga u razvoju PCOS-a, primjena metformina se pokazala uspješnom kod pacijentica s dijagnosticiranim inzulinskom rezistencijom, dijabetesom tipa 2 ili kao druga linija terapije zbog nemogućnosti primjene OHK (75). Neplodnost kod pacijentica s PCOS-om tretira se lijekovima i kirurški. Klomifen citrat je zlatni standard liječenja u indukciji ovulacije već desetljećima (73). Inhibitori aromataze, metformin i gonadotropini u niskim dozama sastavni su dio adjuvantne terapije. U kirurškom liječenju neplodnosti PCOS-a primjenjuje se laparoskopska elektrokoagulacija strome policističnih jajnika tzv. ovarijski „drilling“ (7).

1.6. Utjecaj OHK na hormonalni status

OHK inhibiraju osovinu hipotalamus-hipofiza-jajnik što može utjecati na razinu spolnih hormona, ultrazvučni izgled jajnika i endometrija te na vrijednosti endokrinih markera koji se koriste za ispitivanje ovarijske rezerve (38). Većina provedenih istraživanja uspoređivala je hormonalni status pacijentica prije i nakon primjene različitih vrsta OHK te su pokazane signifikantne promjene vrijednosti spolnih hormona dok je utjecaj na razinu AMH kontradiktoran. Parametri čije su se vrijednosti značajno smanjivale su: FSH, LH, E2,

androstendion, progesteron, ukupni i slobodni testosteron, dok se vrijednost SHBG povećavala (38,76-79).

Nekoliko studija pokazalo je da kod zdravih žena i pacijentica s PCOS-om nema promjena u vrijednostima AMH nakon nekoliko mjeseci primjene OHK (38,80-83) dok su druge studije dokazale značajan pad vrijednosti AMH (76,77,84-86).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Primarni cilj ovog istraživanja je pokazati hormonski status i anti-Müllerov hormon, kao parametar ovarijske rezerve u pacijentica sa sindromom policističnih jajnika, prije i nakon tromjesečne primjene oralne hormonske kontracepcije.

Sekundarni ciljevi istraživanja su pokazati postoji li povezanost promjena anti-Müllerovog hormona i reproduktivnih hormona prije i nakon uzimanja OHK te anti-Müllerovog hormona i antropometrijskih osobina pacijentica.

Hipoteze su :

1. Oralna hormonska kontracepcija smanjuje vrijednosti AMH.
2. Primjena OHK dovodi do promjena u vrijednostima reproduktivnih hormona i androgena.
3. Starije pacijentice kao i one s prekomjernom tjelesnom težinom imaju niže vrijednosti anti-Müllerovog hormona.
4. Postoji povezanost između promjena u vrijednostima anti-Müllerovog hormona i reproduktivnih hormona.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Organizacija istraživanja

Provedeno istraživanje je prospektivno intervencijsko istraživanje.

3.2. Ispitanici

U istraživanje je bilo uključeno 19 ispitanica sa sindromom policističnih jajnika te kliničkim i laboratorijskim znakovima hiperandrogenizma. Sve pacijentice uključene u istraživanje su bile zdrave, s normalnim vrijednostima krvnog tlaka, nisu imale dodatne komorbiditete ni komedikaciju, niti su konzumirale duhan ni alkohol.

3.3. Mjesto istraživanja

Istraživanje je provedeno na Zavodu za ginekološku endokrinologiju Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Split u akademskoj godini 2017/2018 .

3.4. Opis istraživanja

Svim je ispitanicama propisana terapija oralnim hormonskim kontraceptivom koji sadrži 0,035 mg etinil estradiola i 2 mg ciproteron acetata, nakon što je prethodno utvrđeno da nema kontraindikacija za početak terapije. Prije uključivanja u istraživanje, sve pacijentice su potpisale informirani pristanak i dozvolile pristup podacima o visini, težini i dobi te o konzumaciji alkohola i pušenju. Prema smjernicama zdravstvene organizacije kriterij za prekomjeru težinu bio je $ITM \geq 25 \text{ kg/m}^2$.

Mjere ishoda bile su :

- dob
- antropometrijski parametri (tjelesna težina i visina, indeks tjelesne mase)
- koncentracija globulina koji veže spolne hormone (SHBG)

ciklusa i to za:

- hormone hipofize: FSH, LH i prolaktin
- parametar ovarijske rezerve: AMH
- hormone jajnika: estradiol i progesteron

- hormone s androgenim učinkom: ukupni testosteron, slobodni testosteron, DHEAS i androstendion.

Reproduktivni hormoni mjerili su se prije početka terapije oralnim hormonskim kontraceptivom te u prvom prirodnom ciklusu nakon terapije u trajanju od 3 mjeseca.

3.5. Metode određivanja laboratorijskih parametara

Koncentracije hormona analizirane su imunokemijskom elektrokemiluminiscentnom metodom (ECLIA) na autoanalizatoru Roche-Ellecsys u Centralnom laboratoriju Zavoda za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split (Centralni laboratoriji).

3.6. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka rađena je pomoću računalnog programa SPSS. Vrijednosti spolnih hormona prikazane su u obliku aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija. Hipoteze su se testirale primjenom T testa za ovisne uzorke, a linearna povezanost izračunom Pearsonovog koeficijenta korelacije s razinom značajnosti $P < 0,05$ koristeći SPSS (IBM SPSS Statistics version 24, New York, SAD). Za analizu antropometrijskih osobina uzorka primijenjena je deskriptivna statistika, a za procjenu prirode raspodjele podataka Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk testovi. Rezultati su prikazani u tablicama i slikama, a u grafičkim prikazima koristio se program GraphPrism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA, SAD).

4. REZULTATI

4.1. Dob i tjelesna masa ispitanica

U istraživanje je uključeno 19 ispitanica sa sindromom policističnih jajnika. Prosječna dob ispitanica bila je 29 godina, pri čemu je najmlađa pacijentica imala 18, najstarija 35 godina, a 63 % ispitanica je bilo mlađe od 30 godina.

Prosječna tjelesna težina ispitanica iznosila je 69 kg, a prosječni indeks tjelesne mase (ITM) $24,2 \text{ kg/m}^2$. Sukladno smjernicama zdravstvene organizacije (normalan ITM u rasponu od $18,5$ do $24,9 \text{ kg/m}^2$), 42 % pacijentica je imalo prekomjernu tjelesnu težinu, (Tablica 5).

Tablica 5. Dob, tjelesna težina, visina i indeks tjelesne mase (ITM) ispitanica

	DOB (god)	TT (kg)	TV (cm)	ITM (kg/m^2)
Srednja vrijednost	29	69	168	24,2
Raspon	18-35	55-90	155-183	20,2-28,7

(TT- tjelesna težina, TV- tjelesna visina, ITM- indeks tjelesne mase)

4.2. Usporedba mjerenih parametara prije i poslije terapije

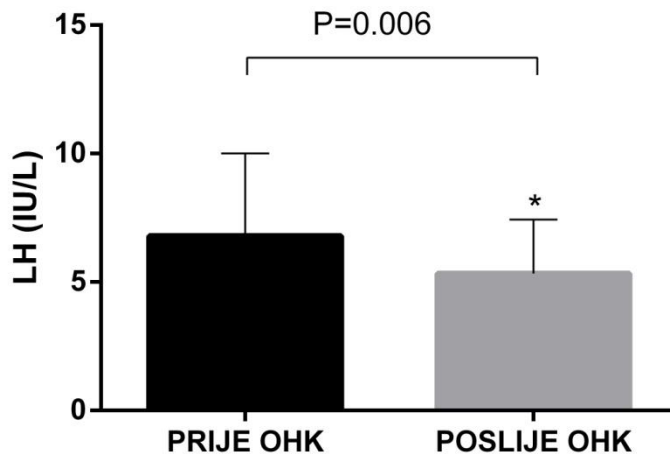
Početne koncentracije FSH, LH, prolaktina, estradiola, progesterona, androstendiona, DHEAS i SHBG su se kretale unutar referentnih vrijednosti. Suprotno tome, koncentracije ukupnog i slobodnog testosterona su bile povišene, kao i koncentracija AMH. Primjenom terapije značajno su se promijenile vrijednosti LH, estradiola, SHBG, slobodnog testosterona i AMH. Koncentracija SHBG se povećala, a koncentracije AMH, LH te estradiola i slobodnog testosterona su se smanjile (Tablica 6 i Slike 4-8).

Tablica 6. Koncentracije FSH, prolaktina, testosterona(ukupnog), DHEAS, androstendiona

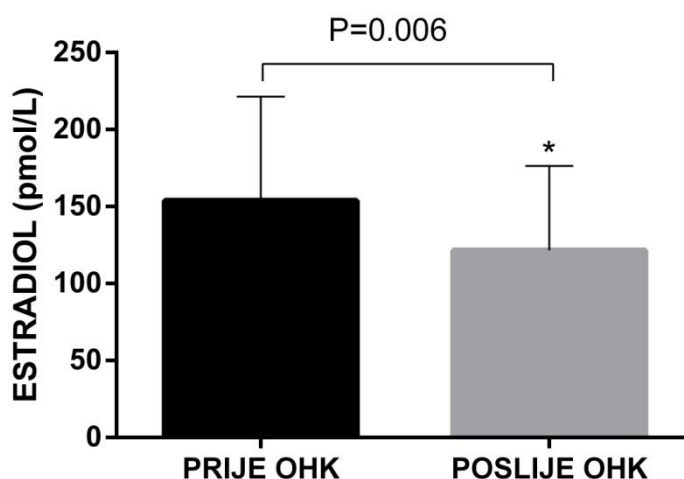
	Koncentracija prije terapije $\pm$ SD	Koncentracija poslije terapije $\pm$ SD	P
FSH	4,87 $\pm$ 1,14	4,89 $\pm$ 1,15	0,932
Prolaktin	412,47 $\pm$ 189,16	395,35 $\pm$ 174,81	0,646
Progesteron	2,67 $\pm$ 0,99	2,27 $\pm$ 0,92	0,140
Testosteron(ukupni)	1,83 $\pm$ 0,52	1,65 $\pm$ 0,44	0,057
DHEAS	6,87 $\pm$ 1,77	6,13 $\pm$ 1,23	0,068
Androstendion	7,47 $\pm$ 3,78	7,66 $\pm$ 2,93	0,777

(FSH-folikulostimulirajući hormon, DHEAS-dehidroepiandrostendion-sulfat, SD-standardna devijacija, p-koeficijent statističke značajnosti)

Kao posljedica primjene oralne kontracepcije, vrijednosti LH su se smanjile s bazalne vrijednosti od 6,79 $\pm$ 3,22 IU/L prije terapije na 5,33 $\pm$ 2,10 IU/L poslije terapije (p=0,006) što odgovara padu vrijednosti za otprilike 20 % (Slika 4).

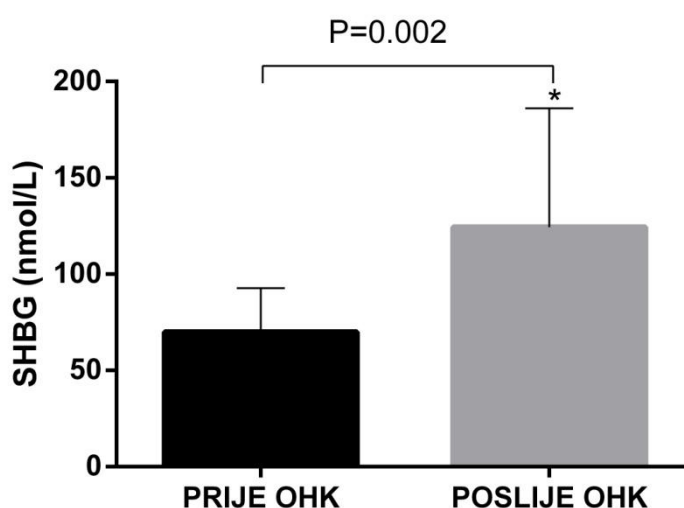
**Slika 4.** Koncentracija LH prije i poslije tromjesečne terapije OHK

Kao posljedica primjene oralne kontracepcije, vrijednosti estradiola su se smanjile s bazalne vrijednosti od $153,75 \pm 69,48$ pmol/L prije terapije na $119,38 \pm 53,67$ pmol/L poslije terapije ($p=0,006$) što odgovara padu vrijednosti za otprilike 20 % (Slika 5).



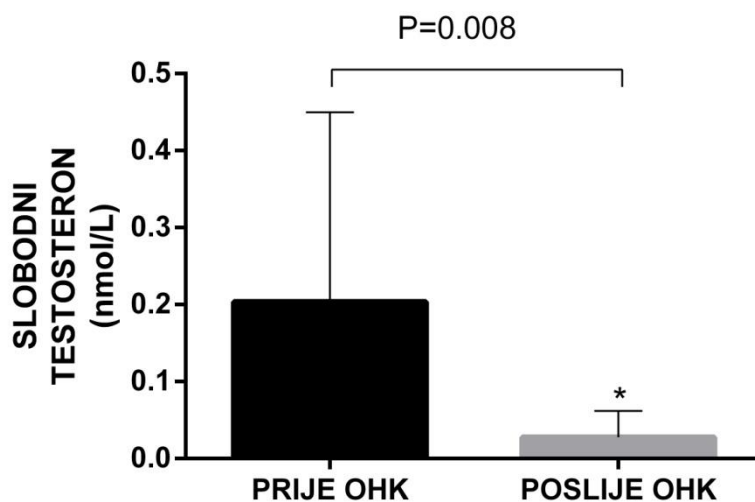
Slika 5. Koncentracija E2 prije i poslije tromjesečne terapije OHK

Kao posljedica primjene oralne kontracepcije, vrijednosti SHBG su se povećale s bazalne vrijednosti od $69,94 \pm 22,88$ nmol/L prije terapije na $124,35 \pm 61,71$ nmol/L poslije terapije ($p=0,002$) što odgovara povećanju vrijednosti za otprilike 40 % (Slika 6).



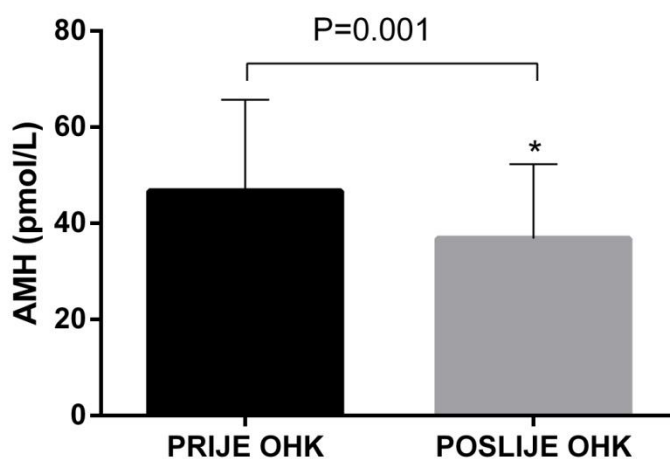
Slika 6. Koncentracija SHBG prije i poslije tromjesečne terapije OHK

Kao posljedica primjene oralne kontracepcije, vrijednosti slobodnog testosterona su se smanjile s bazalne vrijednosti od $0,20 \pm 0,25$ nmol/L prije terapije na $0,03 \pm 0,03$ nmol/L poslije terapije ($p=0,008$) što odgovara padu vrijednosti za više od 85 % (Slika 7).



Slika 7. Koncentracija slobodnog testosterona prije i poslije tromjesečne terapije OHK

Kao posljedica primjene oralne kontracepcije, vrijednosti AMH su se smanjile s bazalne vrijednosti od $46,70 \pm 19,01$ pmol/L prije terapije na $36,82 \pm 15,49$ pmol/L poslije terapije ($p=0,001$) što odgovara padu vrijednosti za otprilike 20 % (Slika 8).



Slika 8. Koncentracija AMH prije i poslije tromjesečne terapije OHK

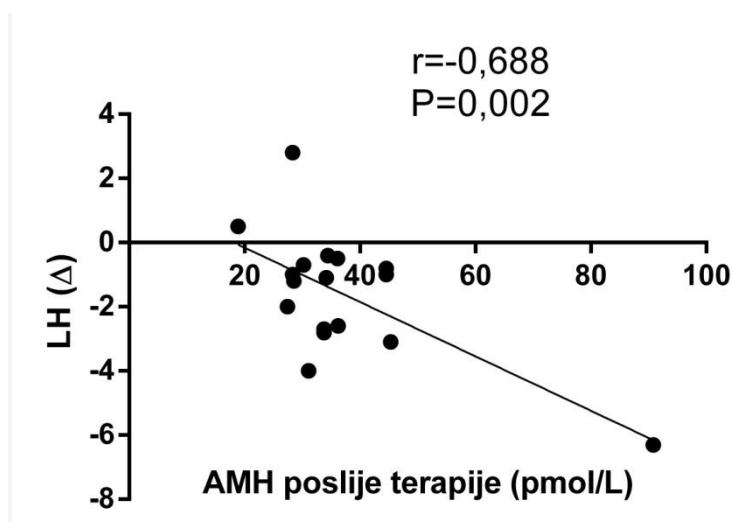
4.3. Odnos AMH s mjerenim parametrima

Promatrajući bazalne koncentracije AMH, utvrđena je negativna povezanost AMH s bazalnim koncentracijama progesterona ($r=-0,517$, $P=0,034$) i s razlikom u koncentraciji LH poslije i prije terapije ($r=-0,497$, $P=0,036$).

Koncentracija AMH poslije terapije također je negativno povezana s opisanom razlikom u koncentraciji LH ($r=-0,688$, $P=0,002$), Slika 9.

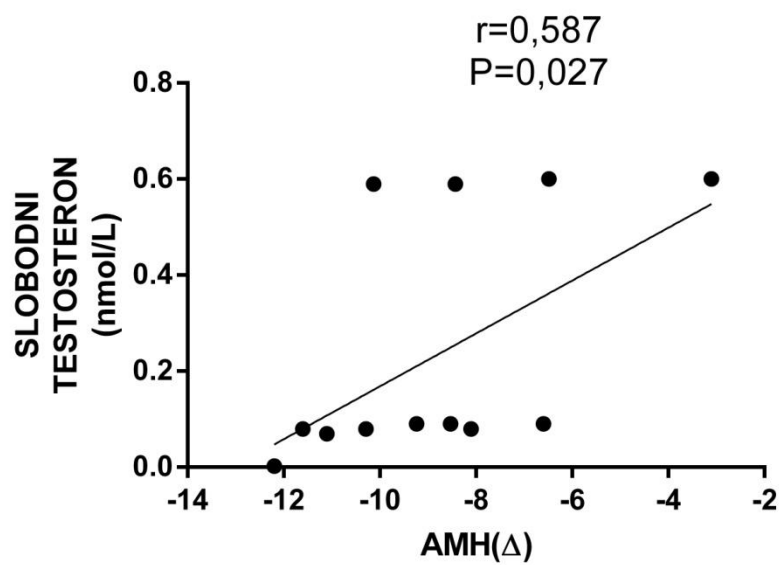
Nadalje, koncentracija AMH poslije terapije negativno korelira s razlikom u koncentraciji estradiola poslije i prije terapije ($r=-0,569$, $P=0,021$) te s koncentracijom progesterona prije ($r=-0,580$, $P=0,024$) i poslije terapije ($r=-0,531$, $P=0,042$). Suprotno tome, uočena je pozitivna povezanost veličine promjene tj. pada AMH (razlika koncentracija poslije i prije) s bazalnom koncentracijom slobodnog testosterona ($r=0,587$, $P=0,027$), Slika 10.

Nije pokazana statistički značajna povezanost vrijednosti AMH s ITM ($r=0,247$, $P=0,309$) niti s godinama ($r=-0,098$, $P=0,690$) bez obzira na OHK.



Slika 9. Povezanost koncentracije AMH poslije terapije s razlikom u koncentraciji luteinizirajućeg hormona poslije i prije terapije

(LH (Δ)=LH poslije - LH prije; AMH anti-Müllerov hormon; r, koeficijent korelacije)



Slika 10. Povezanost razlike u koncentraciji AMH poslije i prije terapije s bazalnom koncentracijom slobodnog testosterona

(AMH (Δ)=AMH poslije - AMH prije; AMH anti-Müllerov hormon; r, koeficijent korelacije)

5. RASPRAVA

Estrogenske i progesteronske komponente oralnih hormonskih kontraceptiva izazivaju supresiju fiziološke povratne sprege između hipotalamusa, hipofize i jajnika pa time utječu na izlučivanje spolnih hormona i mijenjaju hormonalni status. Kod osoba s hormonalnim disbalansom koji se najčešće javlja kod pacijentica sa sindromom policističnih jajnika, navedeni učinak je od iznimne terapijske važnosti (87). Glavni cilj ovog istraživanja bio je pokazati utjecaj oralnog hormonskog kontraceptiva (35 µg etinil estradiol i 2 mg ciproteron acetat) primijenjenog u periodu od 3 mjeseca na koncentraciju anti-Müllerovog hormona koji je pokazatelj ovarijske rezerve jajnika. Osim navedenog, promatrali smo utjecaj primjene terapije na koncentraciju FSH, LH, estradiola, progesterona, prolaktina, SHBG, ukupnog i slobodnog testosterona te DHEAS i androstendiona kao i postoji li povezanost anti-Müllerovog hormona s navedenim hormonima.

Anti Müllerov hormon proizvode granulosa stanice preantralnih i malih antralnih folikula te se smatra parakrinim regulatorom ranog folikularnog rasta (81). Istraživanja su pokazala povećane vrijednosti kod pacijentica sa sindromom policističnih jajnika što je također uočeno i kod naših ispitanica (Slika 8) (88-92). Smatra se da povećane vrijednosti AMH negativnom povratnom spregom inhibiraju FSH te je onemogućen odabir dominantnog folikula, a kao posljedica toga i ovulacija. Suprotno navedenome, La Marca i sur. pokazali su da se za razliku od ostalih hormona, AMH ne mijenja tijekom menstrualnog ciklusa te da ne podliježe utjecaju fluktuacija drugih reproduktivnih hormona (93).

Somunkiran i sur. testirali su navedenu tvrdnju šestomjesečnom primjenom OHK (35 µg etinil estradiol i 2 mg ciproteron acetat) u dvijema skupinama, pacijenticama s PCOS-om i zdravim ispitanicama (83). Nije bilo značajnih promjena AMH niti u jednoj skupini. Slične rezultate pokazali su Streuli i sur. koji su nakon kraće primjene OHK (mjesec dana, 0,02 mg etinil estradiol i 0,15 mg desogestrel) u zdravih ispitanica pokazali nepromijenjene vrijednosti AMH (81). Nadalje, Deb i sur. pokazali su isto, u zdravih ispitanica ali nakon produljene primjene OHK (dulje od godinu dana, 0,03 mg etinil estradiol i 0,15 mg levonorgestrel) (38).

Osim duljine primjene OHK u pacijentica s PCOS-om, važan čimbenik koji se razlikovao u navedenim istraživanjima jest vrsta samog hormonskog preparata. Izdvajanjem studija u kojima je gestagenska komponenta OHK bio ciproteron acetat i usporedbom s našim istraživanjem, naše istraživanje u suprotnosti je s istraživanjem Somunkirana i sur., a podudara se s rezultatima Panidis i sur. (77,83). Panadis i sur. su pokazali statistički značajan

pad AMH nakon 6 mjeseci primjene OHK (35 µg etinil estradiol i 2 mg ciproteron acetat) u pacijentica s PCOS-om. U ovoj su studiji dodatno uspoređeni učinci OHK sa ciproteron acetatom, OHK s drospirenonom i terapije isključivo metforminom. Kako je najveći pad AMH bio u skupini pacijentica koje su liječene OHK sa ciproteron acetatom, naj snažnijim antiandrogenom, tako se zaključuje da je pad AMH uzrokovan padom cirkulirajućih androgena i supresijom osovine hipotalamus-hipofiza-jajnik (77). Nadalje, produljena uporaba OHK smanjuje broj malih antralnih folikula što posljedično smanjuje broj granulosa stanica koje su najvažniji izvori AMH (76).

Međutim i u slučaju primjene OHK s drugim gestagenima, manjeg antiandrogenog učinka u nekoliko studija koje su uključivale pacijentice s PCOS-om, ali i zdrave ispitanice došlo je do pada AMH (84,85,87,94,95).

S obzirom da su pacijentice u našem istraživanju imale izražene kliničke i laboratorijske znakove hiperandrogenizma, tretirane su oralnim kontraceptivom koji sadrži naj snažniji antiandrogeni progesteron, ciproteron acetat. Osim promjena u vrijednosti AMH dokazane su signifikantne promjene u vrijednostima luteinizirajućeg hormona, estradiola, slobodnog testosterona i SHBG.

Promjene navedenih hormona su bile relativno očekivane s obzirom na već spomenutu inhibiciju povratne sprege hipotalamus-hipofiza-jajnik te su sukladne s onima izmjerenima u drugim istraživanjima (smanjenje LH (38,76,77,83), estradiola (38,76,80,84) i slobodnog testosterona (37,83,96) kao i povećanje SHBG (3,37,46,79)). Porast SHBG i pad testosterona posljedica su estrogenske komponente dok progesteronska komponenta supresijom LH vrijednosti smanjuje proizvodnju androgena u jajnicima (97). U našoj studiji trendovi smanjenja svih androgena postoje, ali pad nije statistički značajan u slučaju DHEAS ($P=0,068$) i ukupnog testosterona ($P=0,057$) što bi vjerojatno postalo statistički značajno u slučaju uključenja većeg broja ispitanica.

Uspoređujući utjecaj oralnih kontraceptiva koji sadrže različite sintetske progesterone (ciproteron acetat, desogestrel i drospirenon) na smanjenje androgena, Bhattacharya i sur. ustanovili su da među navedenima nema značajnih razlika nakon 6 mjeseci primjene. Međutim, nakon 12 mjeseci korištenja, oralni kontraceptivi s ciproteron acetatom, u usporedbi s ostalima, pokazuju snažniji antiandrogeni učinak i veći porast SHBG kao i pad ukupnog i

slobodnog testosterona (46). Ciproteron acetat i drospirenon blokiraju androgene receptore i enzim 5- α -reduktazu dok ciproteron acetat dodatno indukcijom jetrenih enzima povećava klirens androgena što doprinosi njegovom snažnijem djelovanju (7,73). Navedeno upućuje da vrsta progesteronske komponente i trajanje primjene oralne hormonske kontracepcije različito utječe na promjenu hormona.

Osim apsolutnih vrijednosti koncentracija samih hormona, važan parametar je i odnos FSH i LH, hormona čije su vrijednosti u zdravih žena vrlo slične. U žena s PCOS-om dolazi do snažnijeg porasta LH, te se omjer FSH i LH od 2:1 u zdravih žena višestruko povećava kod pacijentica s PCOS-om u korist LH (7,98). Sukladno tome, našim istraživanjem utvrđeno je da su bazalne vrijednosti FSH prije terapije niže u odnosu na LH, a terapija značajno popravlja omjer jer se LH vrijednosti smanjuju.

Promatrajući bazalne vrijednosti AMH, utvrđena je njegova negativna povezanost s bazalnim koncentracijama progesterona i s razlikom u koncentraciji LH poslije i prije terapije tj. osobe s nižim vrijednostima bazalnog progesterona imaju višu vrijednost AMH. Navedena povezanost ukazuje na izostanak očekivanog porasta progesterona u drugoj polovici prethodnog ciklusa i moguće anovulacije.

AMH poslije terapije također je negativno povezan s opisanom razlikom u koncentraciji LH, međutim nema povezanosti između razlika AMH i LH (koncentracija poslije - koncentracija prije terapije) što upućuje na to da u fiziologiji ove povezanosti sudjeluje mnogo čimbenika te da zaključci o korelacijama nisu jednoznačni. Sukladno tome su u literaturi podaci o korelaciji različiti: pozitivna korelacija između LH i AMH pokazana je u studijima (88,91,99) dok negativnu korelaciju navode (89,11). Qi i sur. tvrde da povećane vrijednosti LH potiču lučenje androgena i proizvodnju AMH iz granulosa stanica što doprinosi folikularnom arestu (100).

Nadalje, AMH negativno korelira s promjenom E2 te s koncentracijom progesterona prije i poslije terapije što znači da osobe s povećanim vrijednostima AMH nakon terapije imaju manju razliku u vrijednostima LH i E2, te niže vrijednosti progesterona prije i poslije terapije. Negativnu korelaciju AMH i E2 u pacijentica s PCOS-om opazili su Cook i sur., dok Pigny i sur. nisu pronašli povezanost među navedenim parametrima (89,101).

Panidis i sur. su pokazali da nakon šestomjesečne primjene oralnih kontraceptiva s ciproteron acetatom, AMH korelira sa serumskim vrijednostima progesterona i testosterona (77). U našem istraživanju također je uočena pozitivna povezanost veličine promjene AMH s bazalnom vrijednosti slobodnog testosterona ($r=0,587$, $P<0,05$). Za očekivati je da bi žene s višim početnim vrijednostima bazalnog slobodnog testosterona na oralnu kontracepciju odgovarale snažnijim padom AMH.

Za razliku od već prethodno spomenutih studija našim istraživanjem nije pokazan statistički značajan pad FSH vrijednosti kao ni korelacija između AMH i FSH (38,76,77,83,84). La Marca i sur. su pokazali negativnu korelaciju, a Fabreques i sur. pozitivnu korelaciju među navedenim hormonima, kod pacijentica s PCOS-om nakon primjene oralne kontracepcije (11,95). Naši rezultati su u skladu s nekoliko istraživanja koja nisu pronašla korelacije među AMH i FSH kao ni s ostalim reproduktivnim hormonima (81,83,84,99).

Našim istraživanjem pokazano je da nema statistički značajne razlike između dobi i vrijednosti AMH što je u skladu s nekoliko istraživanja (81,89). Štoviše, Kallio i sur. su pokazali kako nijedna promjena hormona ne korelira ni s godinama niti s tjelesnom težinom (76).

Kao što je već navedeno, naše istraživanje je temeljeno na terapiji oralnim kontraceptivima u periodu od 3 mjeseca. Gougeon i sur. ističu da je za normalnu folikulogenezu potrebno upravo 3 mjeseca, a Bentzen i sur. smatraju kako utjecaj oralne kontracepcije u periodu kraćem od 3 mjeseca nema značajan učinak na parametre ovarijske rezerve (86,102). Van den Berg i sur. navode da je supresivni učinak oralne kontracepcije reverzibilan te se promijenjene vrijednosti vraćaju na početno stanje 3 - 6 mjeseci nakon prestanka primjene (103). Mes Krowinkel i sur. ponovno povećanje vrijednosti reproduktivnih hormona u prvoj godini nakon prestanka primjene nazivaju „rebound efektom“ (96).

Uzimajući u obzir prikazane rezultate možemo zaključiti da oralni hormonski kontraceptivi ne izazivaju trajno smanjenje ovarijske rezerve. Oni privremeno dovode do pada povišenih bazalnih vrijednosti AMH kao i promjena u navedenim hormonima što ima pozitivan učinak na stanje pacijentica s PCOS-om. Navedeno upućuje da se ovarijska rezerva

samo prividno smanjuje. Međutim, za donošenje zaključka preporučljivo bi bilo pratiti hormonalni status pacijentica nekoliko mjeseci nakon prestanka primjene oralne kontracepcije kako bi se utvrdilo vrijeme potrebno za povratak na početne vrijednosti i točnu procjenu prave ovarijske rezerve. U našem slučaju to nije bilo moguće jer smo na raspolaganju imali malen uzorak pacijentica s PCOS-om koje su najčešće nakon prestanka primjene željele odmah zanijeti. Nadalje, sa svim ispitanicama je bilo teško ostvariti adherenciju te bi za daljnju evaluaciju hormonalnog statusa nepotrebno teretili zdravstveni sustav što za izradu ovog rada nije bilo opravdano.

6. ZAKLJUČCI

1. Primjena oralne hormonske kontracepcije koja sadrži 35 µg etinil estradiola i 2 mg ciproteron acetata u periodu od 3 mjeseca smanjuje AMH za oko 20 %.
2. Uzimanje terapije uzrokuje promjenu hormonalnog statusa: koncentracija luteinizirajućeg hormona i estradiola se smanjuje za oko 20 %, a slobodnog testosterona za više od 85 %.
3. Vrijednosti SHBG su se značajno povećale nakon primjene oralne hormonske kontracepcije za oko 40 %.
4. Ne postoji povezanost između dobi ispitanica i tjelesne težine s vrijednostima anti-Müllerovog hormona.
5. Bazalne vrijednosti anti-Müllerovog hormona negativno koreliraju s bazalnim koncentracijama progesterona i s razlikom u koncentraciji luteinizirajućeg hormona poslije i prije terapije. Vrijednosti anti-Müllerovog hormona poslije terapije negativno koreliraju s promjenom luteinizirajućeg hormona, promjenom estradiola te vrijednostima progesterona prije i poslije terapije.
6. Veličina promjene anti-Müllerovog hormona pozitivno korelira s bazalnom vrijednosti slobodnog testosterona.
7. Ovarijska rezerva ne može se procijeniti neposredno nakon prestanka primjene oralne hormonske kontracepcije.

7. LITERATURA

1. Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(2):129-140.
2. Šimunić V. Normalan menstrualni ciklus. U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str.45-68.
3. Šimunić V. Plodnost i neplodnost čovjeka. U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 119-140.
4. Šimunić V, Jeren L. Plodnost žene i čimbenici koji je oštećuju. U: Šimunić V. i sur. Kontracepcija i reprodukcijsko zdravlje. Zagreb: FotoSoft; 2002. str. 17-27.
5. Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve-should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod.* 2006;21(11):2729-2735.
6. Šimunić V. Kako poboljšati rezultate izvantjelesne oplodnje? U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 567-560.
7. Pavičić Baldani D. Kronične anovulacije - Sindrom policističnih jajnika. U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska Knjiga; 2012. str 275-296.
8. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, Perheentupa A, Ruokonen A, Tapanainen JS. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2005;20(7):1820-1826.
9. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K i sur. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod.* 2013;19(8):519-527.
10. Jost A, Vigier B, Prépın J, Perchellet JP. Studies on sex differentiation in mammals. *Recent Prog Horm Res.* 1973;29:1-41.
11. La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol.* 2006;64:603-610.
12. Bhide P, Homburg R. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2016;37:38-45.
13. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS. Anti-Müllerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod.* 2009;24(9):2264-2275.
14. Dewailly D, Andersen C, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R i sur. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update.* 2014;20(3):370-385.

15. Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:4064-4069.
16. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006;131:1-9.
17. Nielsen ME, Rasmussen IA, Fukuda M, Westergaard LG, Andersen CY. Concentrations of anti-Müllerian hormone in fluid from small human antral follicles show a negative correlation with CYP19 mRNA expression in the corresponding granulosa cells. *Mol Hum Reprod.* 2010;16:637-643.
18. Grossman MP, Nakajima ST, Fallat ME, Siow Y. Müllerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. *Fertil Steril.* 2008;89:1364-1370.
19. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3836-3844.
20. Škratić L. Važnije laboratorijske vrijednosti i pretvorba nalaza. U: Šimunić V. i sur. *Reprodukcijaska endokrinologija i neplodnost.* Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 697-699.
21. Broer S, Broekmans F, Laven J, Fauser B. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod.* 2014;20(5):688-701.
22. Kralik Oguić S. Hormoni i mehanizam njihova djelovanja. U: Šimunić V. i sur. *Reprodukcijaska endokrinologija i neplodnost.* Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 25-43.
23. Masters SB, Hormoni hipotalamusa i hipofize. U: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Temeljna i klinička farmakologija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2011. str. 643-663.
24. Wise PM, Suzuki S, Brown CM. Estradiol: a hormone with diverse and contradictory neuroprotective actions. *Dialogues Clin Neurosci.* 2009;11(3):297-303.
25. Jirge PR. Ovarian reserve tests. *J Hum Reprod Sci.* 2011;4(3):108-113.
26. Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2003;79:1091-1100.
27. Chrousos GP. Spolni hormoni i njihovi inhibitori. U: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Temeljna i klinička farmakologija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2011. str. 699-726.
28. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update.* 2006;12:685-718.

29. Christin-Maitre S. History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2013;27(1):3-12.
30. Carroll S, Dean WS. Contraception. U: Linn WD, Wofford MR, O'Keefe ME, Posey LM. *Pharmacotherapy in Primary Care.* New York. The McGraw-Hill Companies; 2009. str. 311-317.
31. London A, Jensen JT. Rationale for eliminating the hormone-free interval in modern oral contraceptives. *Int J Gynaecol Obstet.* 2016;134(1):8-12.
32. D'Arpe S, Di Felicianantonio M, Candelieri M, Franceschetti S, Piccioni M, Bastianelli C. Ovarian function during hormonal contraception assessed by endocrine and sonographic markers: a systematic review. *Reprod BioMed Online.* 2016;33(4):436-448.
33. Yildiz BO. Approach to the Patient: Contraception in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):794-802.
34. Pavičić Baldani D. Individualni odabir hormonske kontracepcije. U: Pavičić Baldani D, Šimunić V. *Odabrana poglavlja hormonske kontracepcije.* Zagreb: Pliva Hrvatska; 2016. str. 14-35.
35. Bennett S. Oral hormonal contraceptives. *Nurse Prescribing.* 2017;15(1):16-21.
36. Baza lijekova. Lijekovi: HALMED [Internet]: HALMED. 2018. [pristup 18. listopada 2018]. Dostupno na <http://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/#rezultati>
37. De Leo V, Musacchio M, Cappelli V, Piomboni P, Morgante G. Hormonal contraceptives: pharmacology tailored to women's health. *Hum Reprod Update.* 2016;22(5):634-646.
38. Deb S, Campbell BK, Pincott-Allen C, Clewes JS, Cumberpatch G, Raine-Fenning NJ. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-Müllerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39(5):574-580.
39. Magdić L. Reprodukcijski učinci hormonske kontracepcije. U: Šimunić i sur. *Kontracepcija i reprodukcijsko zdravlje.* Zagreb: FotoSoft; 2002. str. 91-93.
40. The ESHRE Capri Workshop Group. Noncontraceptive health benefits of combined oral contraception. *Hum Reprod Update.* 2005;11(5):513-525.
41. Ellis R, Levin ES, Vitek WS, Hammes SR. Estrogens, Progestins, and the Female Reproductive Tract. U: Goodman L, Gilman A, Brunton L, Lazo J, Parker K. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics.* New York: McGraw Hill; 2006 str. 803-831.
42. Radić V. Hormonska kontracepcija i endometrioza. U: Šimunić i sur. *Kontracepcija i reprodukcijsko zdravlje.* Zagreb: FotoSoft; 2002. str. 113-114.

43. Reid RL, Yen SS. Premenstrual syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1981;139(1):85-104.
44. Pavičić Baldani D. Hiperandrogena stanja i oralna kontracepcija. U: Šimunić i sur. *Kontracepcija i reprodukcijsko zdravlje*. Zagreb: FotoSoft; 2002. str. 119-127.
45. Pavičić Baldani D, Škrgatić L, Bukvić Mokos Z, Trgovčić I. Hyperandrogenemia association with acne and hirsutism severity in Croatian women with polycystic ovary syndrome. *Acta Dermatovenereol Croat*. 2013;21(2):105-112.
46. Bhattacharya SM, Jha A. Comparative study of the therapeutic effects of oral contraceptive pills containing desogestrel, cyproterone acetate, and drospirenone in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2012;98(4):1053-1059.
47. Elger W, Beier S, Pollow K, Garfield R, Shi S, Hillisch A. Conception and pharmacodynamic profile of drospirenone. *Steroids*. 2003;68(10-13):891-905.
48. Schindler AE. Non-Contraceptive Benefits of Oral Hormonal Contraceptives. *Int J Endocrinol Metab*. 2013;11(1):41-47.
49. WHO: Medical eligibility criteria for contraceptive use. [Internet]. World Health Organization. 2015. [pristup 18. listopada 2018] Dostupno na: https://www.who.int/reproductivehealth/publications/family_planning/MEC-5/en/
50. Barr NG, Geffen D. Managing Adverse Effects of Hormonal Contraceptives. *Am Fam Physician*. 2010;82(12):1499-1506.
51. Šimunić V. Je li opravdan ponovni strah od hormonske kontracepcije? *Medix*. 2013;19(104/105):207-215.
52. De Leo V, Scolaro V, Musacchio MC, Di Sabatino A, Morgante G, Cianci A. Combined oral contraceptives in women with menstrual migraine without aura. *Fertil Steril*. 2011;96(4):917-920.
53. Huber JC, Heskamp ML, Schramm GA. Effect of an oral contraceptive with chlormadinone acetate on depressive mood: analysis of data from four observational studies. *Clin Drug Investig*. 2008;28(12):783-791.
54. Marr J, Niknian M, Shulman LP, Lynen R. Premenstrual dysphoric disorder symptom cluster improvement by cycle with the combined oral contraceptive ethinylestradiol 20 mcg plus drospirenone 3 mg administered in a 24/4 regimen. *Contraception*. 2011;84(1):81-86.
55. Radaković B. Kardiovaskularni učinci oralne hormonske kontracepcije. U: Šimunić V. i sur. *Kontracepcija i reprodukcijsko zdravlje*. Zagreb: FotoSoft; 2002. str. 95-101.
56. Brito MB, Nobre F, Vieira CS. Hormonal contraception and cardiovascular system. *Arq Bras Cardiol*. 2011;96(4):81-89.

57. Rosendaal FR, Van Hylckama Vlieg A, Tanis BC, Helmerhorst FM. Estrogens, progestogens and thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2003;1(7):1371-1380.
58. Van Hylckama Vlieg A, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, Doggen CJ, Rosendaal FR. The venous thrombotic risk of oral contraceptives, effects of oestrogen dose and progestogen type: results of the MEGA case-control study. *BMJ*. 2009;339:b2921.
59. Rosendaal FR, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP. Female hormones and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(2):201-210.
60. Rosendaal FR. Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005;1-12.
61. Conard J. Biological coagulation findings in third-generation oral contraceptives. *Hum Reprod Update*. 1999;5(6):672-680.
62. Tans G, Curvers J, Middeldorp S, Thomassen MC, Meijers JC, Prins MH i sur. A randomized cross-over study on the effects of levonorgestrel-and desogestrel-containing oral contraceptives on the anticoagulant pathways. *Thromb Haemost*. 2000;84(1):15-21.
63. Chang CL, Donaghy M, Poulter N. Migraine and stroke in young women: case-control study. The World Health Organisation Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. *BMJ*. 1999;318(7175):13-18.
64. Gierisch JM, Coeytaux RR, Urrutia RP, Havrilesky LJ, Moorman PG, Lowery WJ i sur. Oral contraceptive use and risk of breast, cervical, colorectal, and endometrial cancers: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(11):1931-1943.
65. Kamińska M, Ciszewski T, Łopacka-Szatan K, Miotła P, Starosławska E. Breast cancer risk factors. *Prz Menopauzalny*. 2015;14(3):196-202.
66. Cibula D, Gompel A, Mueck AO, La Vecchia C, Hannaford PC, Skouby SO i sur. Hormonal contraception and risk of cancer. *Hum Reprod Update*. 2010;16(6):631-650.
67. Vessey M, Yeates D, Flynn S. Factors affecting mortality in a large cohort study with special reference to oral contraceptive use. *Contraception*. 2010;82(3):221-229.
68. Hannaford PC, Iversen L, Macfarlane TV, Elliott AM, Angus V, Lee AJ. Mortality among contraceptive pill users: cohort evidence from Royal College of General Practitioners' Oral Contraception Study. *BMJ*. 2010;340:c927.
69. Lie Fong S, Laven J, Duhamel A, Dewailly D. Polycystic ovarian morphology and the diagnosis of polycystic ovary syndrome: redefining threshold levels for follicle count and serum anti-Müllerian hormone using cluster analysis. *Hum Reprod*. 2017;32(8):1723-1731.
70. Goodman NF, Cobin RH, Futterweit W, Glueck JS, Legro RS, Carmina E. American association of clinical endocrinologists, american college of endocrinology, and androgen

excess and pcos society disease state clinical review: guide to the best practices in the evaluation and treatment of polycystic ovary syndrome-part 1. *Endocr pract.* 2015;21(11):1291-1300.

71. Goodman NF, Cobin RH, Futterweit W, Glueck JS, Legro RS, Carmina E. American association of clinical endocrinologists, american college of endocrinology, and androgen excess and pcos society disease state clinical review: guide to the best practices in the evaluation and treatment of polycystic ovary syndrome-part 2. *Endocr pract.* 2015;21(12):1415-1426.

72. Yildiz B, Bozdag G, Yapici Z, Esinler I, Yarali H. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2012;27(10):3067-3073.

73. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet.* 2007;370(9588):685-697.

74. Pastor C, Griffin-Korf M, Aloï J, Evans W, Marshall J. Polycystic Ovary Syndrome: Evidence for Reduced Sensitivity of the Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator to Inhibition by Estradiol and Progesterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(2):582-590.

75. Legro R, Arslanian S, Ehrmann D, Hoeger K, Murad M, Pasquali R i sur. Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):4565-4592.

76. Kallio S, Puurunen J, Ruokonen A, Vaskivuo T, Piltonen T, Tapanainen JS. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertil Steril.* 2013;99(5):1305-1310.

77. Panidis D, Georgopoulos NA, Piouka A, Katsikis I, Saltamavros AD, Decavalas G i sur. The impact of oral contraceptives and metformin on anti-Müllerian hormone serum levels in women with polycystic ovary syndrome and biochemical hyperandrogenemia. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(8):587-592.

78. Fitzgerald C, Feichtinger W, Spona J, Elstein M, Lüdike F, Müller U i sur. A comparison of the effects of two monophasic low dose oral contraceptives on the inhibition of ovulation. *Adv Contracept.* 1994;10(1):5-18.

79. Hugon-Rodin J, Alhenc-Gelas M, Hemker HC, Brailly-Tabard S, Guiochon-Mantel A, Plu-Bureau G i sur. Sex hormone-binding globulin and thrombin generation in women using hormonal contraception. *Biomarkers.* 2017;22(1):81-85.

80. Li H, Wong C, Yeung W, Ho P, Ng E. Serum anti-müllerian hormone level is not altered in women using hormonal contraceptives. *Contraception.* 2011;83(6):582-585.

81. Streuli I, Fraisse T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertility and Sterility*. 2008;90(2):395-400.
82. Andersen AN, Witjes H, Gordon K, Mannaerts B, Andersen N, Bispink i sur. Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment. *Hum Reprod*. 2011;26(12):3413-3423.
83. Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. Anti-Müllerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;134(2):196-201.
84. Arbo E, Vetori DV, Jimenez MF, Freitas FM, Lemos N, Cunha-Filho JS. Serum anti-müllerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills. *Hum Reprod*. 2007;22(12):3192-3196.
85. Kristensen S, Ramlau-Hansen C, Andersen C, Ernst E, Olsen S, Bonde J i sur. The association between circulating levels of antimüllerian hormone and follicle number, androgens, and menstrual cycle characteristics in young women. *Fertil Steril*. 2012;97(3):779-785.
86. Birch Petersen K, Hvidman H, Forman J, Pinborg A, Larsen E, Macklon K i sur. Ovarian reserve assessment in users of oral contraception seeking fertility advice on their reproductive lifespan. *Hum Reprod*. 2015;30(10):2364-2375.
87. Bentzen JG, Forman JL, Pinborg A, Lidegaard Ø, Larsen EC, Friis-Hansen L i sur. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reprod Biomed Online*. 2012;25(6):612-619.
88. Piouka A, Farmakiotis D, Katsikis I, Macut D, Gerou S, Panidis D. Anti-Müllerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296(2):238-243.
89. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S i sur. Elevated serum level of anti-müllerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(12):5957-5962.
90. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Müllerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(3):941-945.

91. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(1):318-323.
92. La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. Mullerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril.* 2004;82(4):970-972.
93. La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod.* 2006;21(12):3103-3107.
94. Dursun F, Güven A, Yıldız M. Assessment of Anti-Müllerian Hormone Level in Management of Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2016;8(1):55-60.
95. Fábregues F, Castelo-Branco C, Carmona F, Guimerá M, Casamitjana R, Balasch J. The effect of different hormone therapies on anti-müllerian hormone serum levels in anovulatory women of reproductive age. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(4):216-224.
96. Mes-Krowinkel MG, Louwers YV, Mulders AG, de Jong FH, Fauser BC, Laven JS. Influence of oral contraceptives on anthropomorphometric, endocrine, and metabolic profiles of anovulatory polycystic ovary syndrome patients. *Fertil Steril.* 2014;101(6):1757-1765.
97. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Legro RS, Balen AH, Lobo R i sur. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2012;97(1):28-38e25.
98. Sharma R, Rathore M, Kunjunni R. Study of serum anti-müllerian hormone level in polycystic ovary syndrome. *Int J Sci Res.* 2018;7(7).
99. Li J, Li R, Yu H, Zhao S, Yu Y, Qiao J. The relationship between serum anti-Müllerian hormone levels and the follicular arrest for women with polycystic ovary syndrome. *Syst Biol Reprod Med.* 2015;61(2):103-109.
100. Qi X, Pang Y, Qiao J. The role of anti-Müllerian hormone in the pathogenesis and pathophysiological characteristics of polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;199:82-87.
101. Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum Mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril.* 2002;77(1):141-146.
102. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev.* 1996;17(2):121-155.

103. van den Berg M, van Dulmen-den Broeder E, Overbeek A, Twisk J, Schats R, van Leeuwen F. Comparison of ovarian function markers in users of hormonal contraceptives during the hormone-free interval and subsequent natural early follicular phases. *Hum Reprod.* 2010;25(6):1520-1527.

Naslov: Utjecaj oralne hormonske kontracepcije na reproduksijsku rezervu jajnika

Cilj: Glavni cilj ovog istraživanja bio je pokazati hormonski status i anti-Müllerov hormon, kao parametar ovarijske rezerve u pacijentica sa sindromom policističnih jajnika, prije i nakon tromjesečne primjene oralne hormonske kontracepcije. Sporedni cilj bio je pokazati postoji li povezanost promjena anti-Müllerovog hormona i reproduktivnih hormona prije i nakon uzimanja OHK te anti-Müllerovog hormona i antropometrijskih osobina pacijentica.

Materijali i metode: U istraživanje je bilo uključeno 19 ispitanica sa sindromom policističnih jajnika te kliničkim i laboratorijskim znakovima hiperandrogenizma. Svim je ispitanicama propisana terapija oralnim hormonskim kontraceptivom koji sadrži 0,035 mg etinil estradiola i 2 mg ciproteron acetata. Mjere ishoda bile su dob, antropometrijske karakteristike te vrijednosti reproduktivnih hormona izmjerene prije početka terapije i u prvom ciklusu poslije terapije. Koncentracije hormona analizirane su imunokemijskom elektrokemiluminiscentnom metodom (ECLIA).

Rezultati: Prosječna dob ispitanica bila je 29 godina, pri čemu je najmlađa pacijentica imala 18, najstarija 35 godina, a 63 % ispitanica bilo je mlađe od 30 godina. Prosječna tjelesna težina ispitanica iznosila je 69 kg, a prosječni indeks tjelesne mase (ITM) 24,2 kg/m². Početne koncentracije FSH, LH, prolaktina, estradiola, progesterona, androstendiona, DHEAS i SHBG su se kretale unutar referentnih vrijednosti. Suprotno tome, koncentracije su ukupnog i slobodnog testosterona bile povišene, kao i koncentracija AMH. Primjenom terapije, koncentracija SHBG se povećala za oko 40 %, dok su se koncentracije AMH, LH te estradiola smanjile za oko 20 %, a slobodnog testosterona za više od 85 %. Koncentracija AMH poslije terapije negativno je povezana s razlikom u koncentraciji LH poslije i prije terapije ($r=-0,688$, $P=0,002$). Suprotno tome, uočena je pozitivna povezanost veličine promjene tj. pada AMH (razlika koncentracija poslije i prije) s bazalnom vrijednosti slobodnog testosterona ($r=0,587$, $P=0,027$). Nije pokazana povezanost vrijednosti AMH s ITM ($r=0,247$, $P=0,309$) niti s dobi ($r=-0,098$, $P=0,690$).

Zaključak: Primjena oralne hormonske kontracepcije koja sadrži 35 µg etinil estradiola i 2 mg ciproteron acetata u periodu od 3 mjeseca prividno smanjuje ovarijsku rezervu i uzrokuje promjene reproduktivnih hormona. Za točniji uvid u stvarnu procjenu

ovarijske rezerve potrebna su daljnja istraživanja temeljena na dugoročnijem praćenju hormonalnog statusa pacijentica s PCOS-om.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title: The effects of oral contraceptives therapy on ovarian reserve

Objective: The main objective of this study was to determine change of the hormonal status and Anti-Müllerian hormone, as ovarian reserve parameter, in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS), after three months of oral contraceptives therapy. A secondary goal was to establish whether there was a correlation between changes in the Anti-Müllerian hormone and reproductive hormone levels or the Anti-Müllerian hormone and anthropometric characteristics of the patient.

Patients and Methods: The study included 19 patients with PCOS and clinical and laboratory signs of hyperandrogenism. All participants were prescribed oral contraceptive agent (0.035 mg ethinyl estradiol, 2 mg cyproterone acetate). The outcome measures included age, anthropometric characteristics and the concentrations of reproductive hormones (AMH, LH, prolactin, estradiol, progesterone, androstenedione, total and free testosterone, DHEAS and SHBG) measured before the therapy and during the first menstrual cycle after the end of the therapy. Hormone concentrations were analyzed by the immunochemical electrochemiluminiscent method (ECLIA).

Results: The average age of participants was 29, the youngest patient was 18, and the oldest 35. 63% of the participants were under the age of 30. The average body weight of the participants was 69 kg and the average body mass index (BMI) was $24.2 \text{ kg} / \text{m}^2$. Initial concentrations of FSH, LH, prolactin, estradiol, progesterone, androstenedione, DHEAS and SHBG were within reference ranges. In contrast, concentrations of total and free testosterone were elevated, as were AMH concentrations. Following therapy, SHBG concentrations increased by approximately 40%, while AMH, LH and estradiol concentrations decreased by nearly 20% and free testosterone by more than 85%. The concentration of AMH after therapy was negatively related to the difference in LH concentration before and after the therapy ($r = -0.688$, $P = 0.002$). In contrast, a positive correlation was found between the change in AMH (difference in concentration following treatment) with the baseline value of free testosterone ($r = 0.587$, $P = 0.027$). No association of AMH values with BMI ($r = 0.247$, $P = 0.309$) or with age ($r = -0.098$, $P = 0.690$) was observed.

Conclusion: The use of oral hormone contraceptives containing 35 µg of ethinylestradiol and 2 mg of cyproterone acetate over a period of 3 months apparently reduced

the ovarian reserve and altered hormonal status. For better assessment of ovarian reserve, further research based on a longer-term monitoring of the patient's hormonal status with PCOS is needed.

10. ŽIVOTOPIS

Osnovni podatci:

Ime i prezime: Klara Dumanic

Datum rođenja: 20. prosinca 1994. godine

Mjesto rođenja: Split, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Gajeva 15, 21 000 Split

Broj telefona: +385 98 9748211

e-adresa: klara.dumanic@gmail.com

Obrazovanje:

2013. - 2018. Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu,

Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija

2009. - 2013. Opća gimnazija "Vladimir Nazor", Split

2001. - 2009. Osnovna škola "Marjan", Split

Radno iskustvo:

veljača 2018.- rujan 2018. Stručno osposobljavanje u Ljekarni Splitsko-dalmatinske županije, Ljekarna „Marjan“.

svibanj 2014.- rujan 2018. Savjetovanje o dodatcima prehrani i kozmetici u ljekarnama.

Nagrade i priznanja:

-Rektorova nagrada za izvrsnost, akademska godina 2017./2018.

-Osvojena prva mjesta na natjecanjima u kliničkim vještinama „Pharmaceutical and Medical Knowledge Showdown“ i „Interdisciplinary Skills Competition“, Split 2018.

-Osvojeno drugo mjesto na Natjecanju u marketinškim vještinama, Zagreb 2017.

-Nagrada za znanstveni rad "Antioksidacijska svojstva i sastav ekstrakta zelenog čaja u ovisnosti načinu pripreme" na 6. Simpoziju studenata farmacije i biokemije „FARMEBS 2017“.

Znanja i vještine:

-engleski jezik (C1), talijanski jezik (B2)

-vozačka dozvola B kategorije

-rad u programima Microsoft Office i Esculap 2000