



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI  
MEDICINSKI FAKULTET



**Valentina Soldat-Stanković**

**UTICAJ TERAPIJE INSULINSKIM  
SENZITAJZERIMA  
NA METABOLIČKI I HORMONSKI PROFIL  
ŽENA SA SINDROMOM POLICISTIČNIH  
JAJNIKA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2021.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA  
FACULTY OF MEDICINE



**Valentina Soldat-Stanković**

**THE EFFECT OF METFORMIN AND  
MYOINOSITOL ON METABOLIC AND  
HORMONAL OUTCOMES IN WOMEN  
WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2021.

**Mentor:** Prof. dr Snježana Popović-Pejičić, redovni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

**Komentor:** Prof. dr Đuro Macut, redovni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

**Naslov doktorske disertacije:** Uticaj terapije insulinskim senzitajzerima na metabolički i hormonski profil žena sa sindromom policističnih jajnika

**Rezime:** Cilj je bio utvrditi uticaj insulinskih senzitajzera metformina i mioinozitola na nivo adiponektina, hormonske i metaboličke karakteristike žena sa sindromom policističnih jajnika (PCOS) u zavisnosti od njihovog indeksa tjelesne mase (ITM). U istraživanje je uključeno ukupno 60 žena sa PCOS prema Rotterdamskim kriterijumima iz 2003 godine i 60 zdravih žena mečovanih prema starosti i ITM. Šezdeset žena sa PCOS (30 normalno uhranjenih i 30 prekomjerno uhranjenih/gojaznih) je randomizovano na terapijski tretman sa mioinozitolom (4 g/dan) ili metforminom (1500 mg/dan) u trajanju od 6 mjeseci u ovom otvorenom randomizovanom istraživanju paralelnih tretmana. Serumska koncentracija adiponektina, hormonski i metabolički laboratorijski parametri i klinička procjena ITM i tjelesnog sastava je urađena prije i poslije tretmana. Analiza unutar grupa je pokazala da je terapija metforminom dovela do značajnog smanjenja tjelesne mase, ITM, masne mase, obima struka (OS), adiponektina, FG skora, luteinizirajućeg hormona, testosterona i indeksa slobodnih androgena (FAI) kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS i smanjenja OS, AUC<sub>Glukoze</sub> i anti-Milerovog hormona kod normalno uhranjenih žena sa PCOS. Nakon tretmana sa mioinozitolom smanjenje OS i dijastolnog krvnog pritiska (DKP) je nađeno kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS, a smanjenje glikemije našte i 2h insulina kod normalno uhranjenih PCOS žena. U poređenju sa metforminom, mioinozitol je značajno smanjio DKP ( $p=0,036$ ) i serumski nivo hs-CRP ( $p=0,043$ ). Metformin je značajno smanjio testosteron (*mean difference* 0,166 ng/mL;  $p=0,002$ ), i 2h glukozu (*mean difference* 0,72 mmol/L;  $p=0,032$ ). Naše istraživanje je pokazalo slične efekte metformina i mioinozitola na ITM i tjelesni sastav. Metformin je podizao nivo adiponektina i bio efikasniji u redukciji testosterona kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih PCOS pacijentica. Prednost mioinozitola u redukciji DKP može dovesti do povoljnih kardiovaskularnih ishoda kod žena sa PCOS.

**Ključne riječi:** Sindrom policističnih jajnika, tjelesna masa, metformin, mioinozitol, adiponektin

**Naučna oblast:** Interna medicina

**Naučno polje:** Medicina

**Klasifikaciona oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifrarniku:** B 480

**Tip odabrane licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za način korišćenja sadržaja doktorske disertacije:** Autorstvo-nekomercijalno-dijeliti pod istim uslovima

**Mentor:** Snježana Popović-Pejičić, MD, PhD, professor, Faculty of medicine, University of Banja Luka

**Comentor:** Đuro Macut, MD, PhD, professor, Faculty of medicine, University of Belgrade

**Title of the doctoral dissertation:** The effect of metformin and myoinositol on metabolic and hormonal outcomes in women with polycystic ovary syndrome

**Summary:** The aim was to compare the effects of insulin sensitizers such as metformin and myoinozitol on adiponectin levels, hormonal and metabolic characteristics in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) in respect to their body mass index (BMI). A total of 60 women with PCOS who met the 2003 Rotterdam diagnostic criteria and 60 age and body mass index matched controls without PCOS were recruited. Sixty women with PCOS (30 normal-weight and 30 overweight/obese) were randomized to either myoinozitol (4 g/day) or metformin (1500 mg/day) for a period of 6 months in this open label, parallel randomized clinical trial. Serum concentration of adiponectin, hormonal and metabolic laboratory outcomes and clinical assessment of BMI, body composition and Ferriman-Gallwey score (FG score) were performed before and after treatment. Intragroup analysis showed that six months of metformin treatment resulted in significant decrease in body weight, BMI, body fat mass, waist circumference (WC), adiponectin, FG score, luteinizing hormone, total testosterone and free androgen index (FAI) in overweight/obese PCOS subjects, and reduced WC, AUC<sub>Glucose</sub> and anti-Müllerian hormone levels in normal-weight PCOS women. After six months of myoinozitol treatment, decrease in WC, improved body composition and reduced diastolic blood pressure (DBP) were observed in overweight/obese PCOS group and reduced fasting glucose and 2h insulin in normal-weight PCOS women. Compared with metformin, myoinozitol significantly decreased DBP ( $p=0.036$ ) and significantly increased serum hs-CRP ( $p=0.043$ ). Metformin intake significantly decreased serum total testosterone (mean difference 0.166 ng/mL;  $p=0.002$ ), and 2h glucose (mean difference 0.72 mmol/L;  $p=0.032$ ). Our study showed similar effects of metformin and myoinozitol on BMI and body composition, while metformin up-regulated serum adiponectin level and was more effective on testosterone in overweight/obese PCOS patients. An advantage of myoinozitol in reduction of DBP can predict the favorable cardiovascular outcomes in PCOS women.

**Key words:** Polycystic ovary syndrome, body mass, metformin, myoinozitol, adiponectin

**Scientific area:** Internal medicine

**Scientific field:** Medicine

**Classification code of the scientific area by CERIF codebook:** B 480

**Type of the selected licence of the Creative Commons how to use the content of the doctoral dissertation:** Attribution-NonCommercial-ShareAlike

*Sreća je putovanje, a ne destinacija.*

Mojim kćerkama,

Nadji i Miji.

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Odlike sindroma policističnih jajnika.....	1
1.1.1. Etiologija PCOS.....	2
1.1.2. Patofiziologija PCOS .....	3
1.2. Kardiometabolički rizik u PCOS-u.....	15
1.2.1.Kardiovaskularni faktori rizika u PCOS-u.....	16
1.3. PCOS i subklinička KVB .....	19
1.3.1. Uloga hronične inflamacije .....	20
1.3.2. Uloga oksidativnog stresa .....	21
1.4. PCOS i klinička KVB.....	21
1.5. Insulinski senzitajzeri u terapiji PCOS-a.....	22
1.5.1. Metformin u terapiji PCOS .....	22
1.5.2 Mioinozitol u terapiji PCOS .....	28
2. RADNE HIPOTEZE .....	35
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	36
4. ISPITANICI I METODE .....	37
4.1. Ispitanice.....	37
4.1.1 Anamnestički podaci.....	38
4.1.2. Antropometrijski podaci .....	39
4.1.3. Podaci o kliničkim karakteristikama.....	39
4.2. Biohemski parametri .....	40
4.2.1. Priprema seruma .....	40
4.2.2. Određivanje biohemskih parametara .....	40
4.3. Određivanje hormona .....	41
4.4. Izračunavanje parametara insulinske rezistencije.....	42
4.5. Ultrazvučni pregled jajnika .....	42
4.6. Statistička obrada podataka .....	43
5. REZULTATI .....	45
5.1. Kliničke, biohemiske, hormonske i ultrazvučne karakteristike ispitanica .....	45
5.1.1. Demografski podaci .....	45

5.1.2. Kliničke karakteristike zdravih i pacijentica sa PCOS .....	46
5.1.3. Biohemijske karakteristike zdravih i pacijentica sa PCOS .....	47
5.1.4. Hormonski status zdravih i žena sa PCOS.....	48
5.1.5. Biohemijske i hormonske promjene tokom OGTT .....	49
5.2. Povezanost biomarkera adiponektina sa antropometrijskim, biohemijskim i hormonskim parametrima žena sa PCOS .....	51
5.3. Analiza faktora povezanih sa adiponektinom kod žena sa PCOS .....	51
5.4. Kliničke, biohemijske i hormonske karakteristike žena sa PCOS posle sprovedene šestomjesečne terapije .....	57
5.5. Uticaj terapije MET i MI unutar podgrupa normalno uhranjenih i prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS.....	60
5.6. Poredanje tretmana metforminom i mioinozitolom tokom vremena.....	65
5.6.1. Interakcija lijekova u odnosu na prije i poslije terapije (Interakcija tretman x vrijeme) .....	68
5.6.2. Glavni efekat tretmana .....	69
5.6.3. Glavni efekat vremena .....	70
6. DISKUSIJA.....	77
7. ZAKLJUČCI .....	87
8. LITERATURA.....	89
<b>BIOGRAFIJA</b>	
<b>IZJAVA 1</b>	
<b>IZJAVA 2</b>	
<b>IZJAVA 3</b>	

## **1. UVOD**

### **1.1. Odlike sindroma policističnih jajnika**

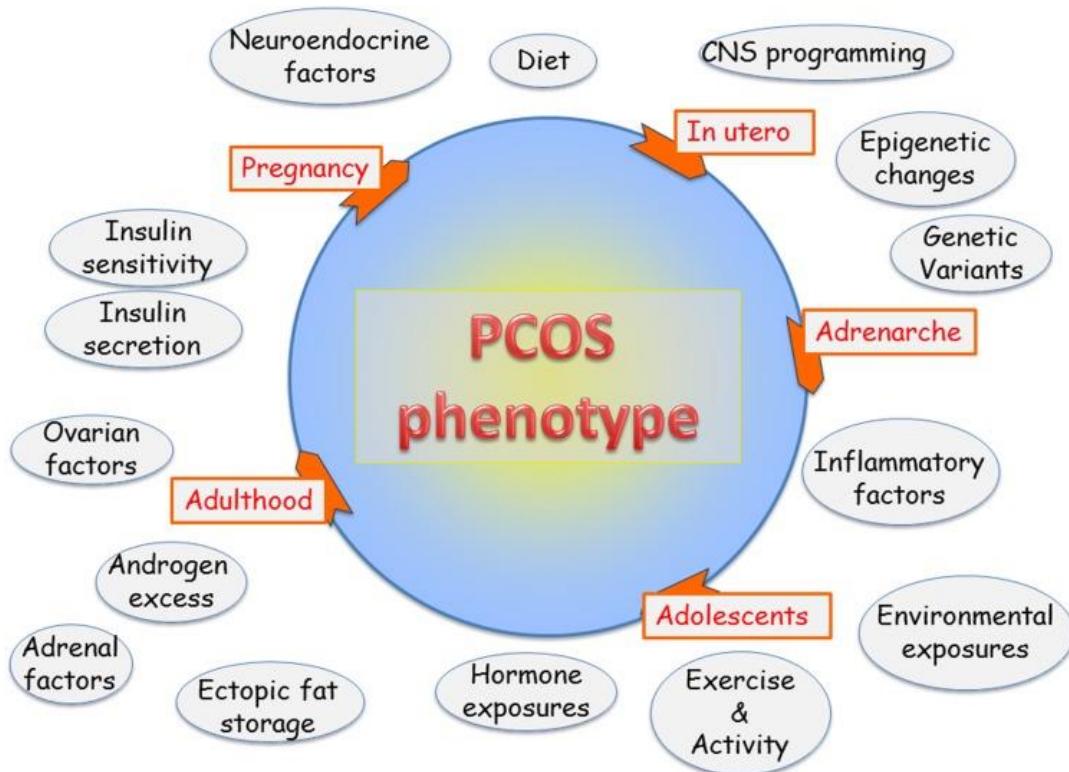
Sindrom policističnih jajnika (*Polycystic ovary syndrome - PCOS*) je heterogen sindrom koji karakteriše hiperandrogenizam i hronična anovulacija. Prevalenca sindroma je od 6-20% kod žena reproduktivne dobi<sup>[1,2]</sup>. S obzirom na visoku prevalencu oboljenja, poslednjih decenija jedan od važnijih ciljeva bilo je formulisanje adekvatne definicije PCOS-a i uspostavljanje jasnih dijagnostičkih kriterijuma.

Kriterijumi za dijagnozu PCOS-a su definisani u tri navrata. Na osnovu preporuka Nacionalnog instituta za zdravlje SAD-a (NIH, od eng. *National Institute of Health*) 1990. godine dijagnostički kriterijumi za PCOS su udruženo prisustvo anovulacije i hiperandrogenizma, potvrđenog biohemski ili klinički (hirzutizam, akne)<sup>[1,2]</sup>. U Roterdamu 2003. godine od strane Evropskog društva za humanu reprodukciju i embriologiju (ESHRE, od eng. *European Society of Human Reproduction and Embryology*) i Američkog društva za reproduktivnu medicinu (ASRM, od eng. *American Society for Reproductive Medicine*) predloženo je da su 2 od 3 kriterija (hronična anovulacija, hiperandrogenizam i ultrazvučno potvrđen policistični izgled jajnika) neophodna za postavljanje dijagnoze<sup>[3]</sup>. Roterdamski kriterijumi su stavili policističnu morfologiju jajnika u istu ravan sa anovulacijom i hiperandrogenizmom, te se prema njima dijagnoza PCOS može postaviti i u odsustvu hiperandrogenizma. Ovo je dovelo do neslaganja u stručnoj javnosti i 2006. godine na sastanku radne grupe Društva za povećan nivo androgena i PCOS je zaključeno da je PCOS uglavnom hiperandrogeni poremećaj, a da prisustvo akni, hirzutizma i ili hiperandrogenemije predstavlja *sine qua non* za dijagnozu PCOS. Drugi potreban kriterijum za dijagnozu je prisustvo hronične anovulacije ili policistične morfologije<sup>[4]</sup>. Prisustvo tri različite definicije za dijagnozu PCOS odražava fenotipsku heterogenost sindroma. Glavni kriteriji su neophodni za dijagnozu, a takođe identikuju i različite fenotipove na osnovu kombinacije različitih kriterija. Važan uticaj metaboličkih faktora, prvenstveno insulinske rezistencije i gojaznosti na patogenezu PCOS i sklonost ranijem razvoju glukozne intolerancije, uključujući tip 2 dijabetesa, dovelo je do mišljenja da se ovi faktori moraju uzeti u obzir kod definisanja PCOS fenotipa i planiranja potencijalnih terapijskih strategija kod svakog pacijenta pojedinačno<sup>[2]</sup>.

Ekspertski panel NIH-a u decembru 2012. dao je preporuku da se kao dijagnostički kriterijumi zadrže kriterijumi ESHRE/ASRM, uz preporuku da se identificuje specifični fenotip kod svakog pacijenta pojedinačno<sup>[5]</sup>. Korišćenjem mogućih kombinacija preporučenih kriterijuma mogu se identifikovati četiri varijante fenotipa PCOS: 1) prisustvo kliničkog i/ili biohemiskog hiperandrogenizma i hronične anovulacije, 2) hiperandrogenizam i ultrazvukom potvrđeno prisustvo cisti na jajnicima, ali uz održanje ovulatornih ciklusa, 3) hronična anovulacija i policistični jajnici bez hiperandrogenizma i, konačno, 4) hronična anovulacija, policistični jajnici i hiperandrogenizam<sup>[2]</sup>.

### **1.1.1. Etiologija PCOS**

Etiologija PCOS je kompleksna i multifaktorijalna. PCOS nastaje kao rezultat interakcije različitih genetskih i okolišnih faktora, koja se obično manifestuje oko puberteta i ispoljava se tokom cijelog reproduktivnog perioda žene (Slika 1). Patofiziološki mehanizmi nastanka bolesti su višestruki i uključuju nekontrolisanu ovarijalnu steroidogenezu, greške u prenosu insulinskog signala, prekomjeran oksidativni stres, faktore inflamacije, neuroendokrine, genetske i faktore okoline<sup>[6]</sup>. Primarni poremećaj u patogenezi PCOS-a i dalje nije poznat, pa je postavljeno nekoliko teorija o mehanizmima nastanka i razvoja PCOS-a. Jedna od teorija sugerira da kliničke odlike PCOS-a nastaju kao rezultat genetski determinisane hipersekrecije androgena u ovarijuma koji počinje oko puberteta ili vrlo vjerovatno rano tokom života<sup>[7]</sup>. Promjene u intrauterinom okruženju i hiperandrogenizam tokom fetalnog života uticajem na programiranje hipotalamo-pituitarne osovine što favorizuje višak sekrecije luteinizirajućeg hormona (LH) i vodi razvoju abdominalne gojaznosti i posljedične insulinske rezistencije<sup>[8]</sup>. Poremećena negativna povratna sprega regulacije LH zajedno sa kompenzatornom hiperinsulinemijom nastalom zbog insulinske rezistencije, mogu uzrokovati anovulaciju<sup>[7]</sup>. Primarni defekt u hipotalamusu takođe može biti uzrok pojačane sekrecije LH u PCOS-u<sup>[9]</sup>. Pojačana pulsatilnost sekrecije gonadotropin-oslobađajućeg hormona (GnRH, od eng. *Gonadotropin Releasing Hormone*) uzrokuje povećano lučenje LH u odnosu na folikulostimulirajući hormon (FSH)<sup>[10]</sup>. Relativni porast lučenja LH u odnosu na FSH dovodi do povećane produkcije androgena u tekaćelijama i prekida razvoja oocita.



Slika 1. Potencijalni faktori uključeni u patofiziologiju PCOS (slika preuzeta iz rada *Witchel i sar.; 2019*)<sup>[6]</sup>

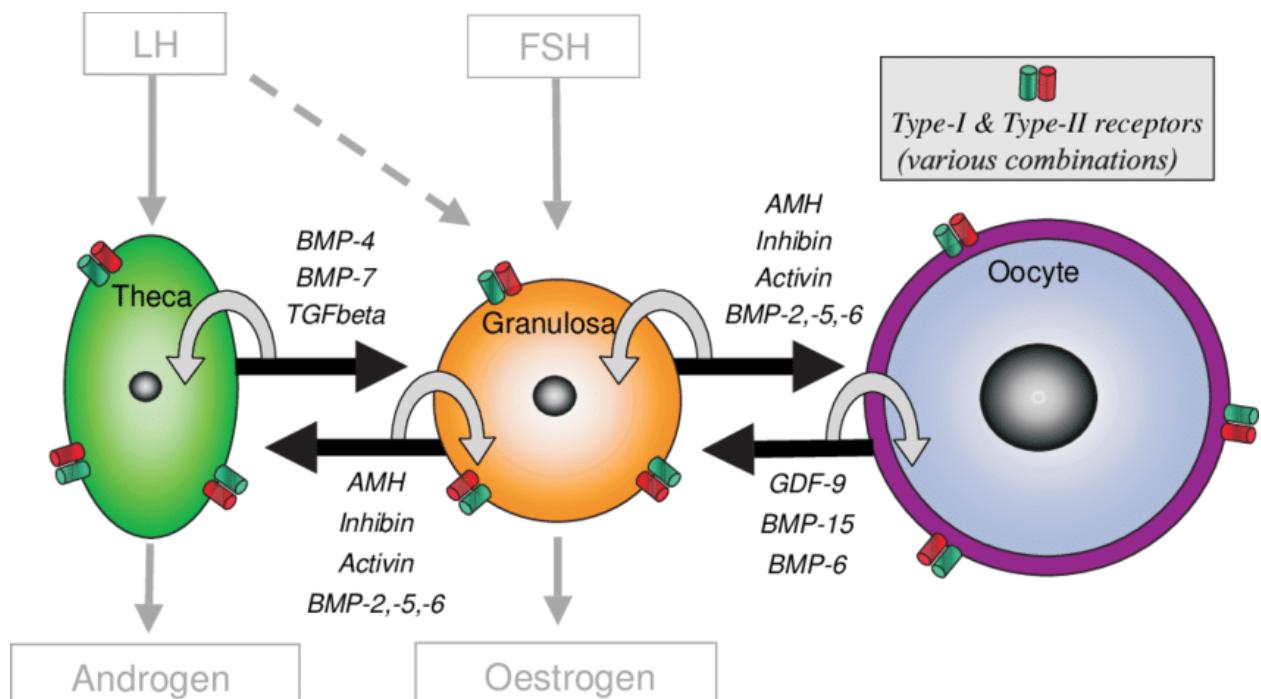
### 1.1.2. Patofiziologija PCOS

#### 1.1.2.1. Abnormalna regulacija steroidogeneze i ovarijalne funkcije

Povećana produkcija i sekrecija androgena predstavljaju temeljnu karakteristiku PCOS-a. Sindrom se smatra oblikom funkcionalnog ovarijalnog hiperandrogenizma, koji remeti intraovarijalne procese koji normalno koordinišu sekreciju androgena i estrogena u jajnicima<sup>[11]</sup>. Danas se ovarijalni hiperandrogenizam uglavnom pripisuje genetski determinisanom inherentnom steroidogenom defektu u tekaćelijama jajnika. Tekaćelije žena sa PCOS, u kojima se ispoljava povećana produkcija androgena, pokazuju povećanu ekspresiju enzima 17α-hidroksilaza/17,20 lialaza (CYP17A1) ili aktivnost P450c17, kao i LH receptora<sup>[12]</sup>. Imunohistohemijska ispitivanja su pokazala da tekaćelije takođe eksprimiraju enzime uključene u alternativni put steroidogeneze<sup>[13]</sup>. Genetska ispitivanja DENND1A lokusa pokazala su povećanu ekspresiju varijante DENND1A V2 u tekaćelijama žena sa PCOS<sup>[14]</sup>. Još uvijek nije poznat mehanizam kojim DENND1A V2 stimuliše steroidogenezu. DENND1A je član familije proteina vezanih za klatrin koji oblaže udubljenja unutrašnje citoplazmatske membrane i učestvuje u prometu proteina, procesima endocitoze i receptorske

obnove<sup>[14]</sup>. Pretpostavlja se da utiče na funkciju LH putem ushodne regulacije LH receptorskih signalnih puteva.

Funkcija teka ćelija je modulirana dejstvom parakrinih faktora koje produkuju granuloza ćelije u odgovoru na FSH (Slika 2). I autokrini (pone sive strelice) i parakrini (pone crne linije) signali su uključeni u komunikaciju, zavisno od ekspresije odgovarajuće kombinacije tipa I i tipa II receptora na ćelijskoj površini<sup>[15]</sup>.



Slika 2. Članovi TGF- $\beta$  superfamilije i ekstracelularni ligandi uključeni u bidirekcionu komunikaciju između teka i granuloza ćelija, i granuloza ćeija i oocita. (slika preuzeta iz rada Knight i sar.; 2006)<sup>[15]</sup>

U normalnim uslovima granuloza ćelije ispoljavaju inhibitorno dejstvo na sekreciju androgena u teka ćelijama, što nedostaje u PCOS-u. Inhibin B, peptid koji je u recipročnoj negativnoj povratnoj spregi sa FSH, je neophodan i permisivan faktor za sintezu androgena u teka ćelijama<sup>[11]</sup>. Ekspresija receptora za inhibin B je povećana u PCOS-u<sup>[11]</sup>. Poznato je da i drugi peptidi iz granuloza ćelija i oocita moduliraju ekspresiju LH receptora i steroidogenih enzima tokom ranog razvoja teka ćelija, i mogu posredovati u efektima na teka ćelije u PCOS-u. Ovi faktori uključuju grupu  $\beta$  transformišućih faktora rasta (eng *TGF-transforming growth factor  $\beta$* ), koštane morfogenetske proteine (eng. *bone morphogenetic proteins*, BMPs), druge faktore rasta i diferencijacije i citokine, kao što je tumorski faktor nekroze  $\alpha$  (eng. *Tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF $\alpha$ )<sup>[11]</sup>.

### 1.1.2.2. Poremećaj folikulogeneze

Jajnici žena sa PCOS imaju povećan broj malih antralnih folikula, različit stepen hiperplazije i hipertrofije strome i teka ćelija, kao i debeljanje korteksa jajnika. Povećanje broja malih antralnih folikula, promjera 2-9 mm nastaje zbog povećane proporcije folikula koji prelaze iz primordijalne u primarnu fazu rasta folikula, folikularnog zastoja u sazrevanju i selekciji dominantnog folikula, te usporene atrezije<sup>[16]</sup>.

Precizni signalni mehanizmi koji iniciraju aktivaciju folikula nisu dovoljno poznati. Inicijalna faza folikularnog rasta nezavisna je od gonadotropina, i pod uticajem je autokrine, parakrine i sekrecije lokalnih endokrinskih faktora<sup>[17]</sup>. Optimalna folikulogeneza se odvija u uslovima izbalansiranog djelovanja intra- i ekstraovarijalnih faktora, a bilo koji poremećaj ove ravnoteže vodi poremećenoj folikulogenizi. Anti Milerov hormon (AMH), koga sekretuju ćelije granuloze malih rastućih folikula, ima ključnu ulogu u održavanju ravnoteže, jer inhibira prelaz primordijalnih folikula u primarne folikule i stimulatorno dejstvo FSH na aktivnost aromataze, enzima koji prevodi androgene u estrogene<sup>[18]</sup>. Porast koncentracije estradiola u granuloza ćelijama stimulisanim sa FSH dovodi do supresije ekspresije AMH<sup>[19]</sup>. Serumski nivo AMH odražava intrafolikularni status androgena, vjerovatno zato što androgeni stimulišu rane faze rasta folikula. Rani folikuli, naime, stiču androgenski receptor prije ostalih, tako da androgeni mogu izazvati produženje FSH nezavisne faze odabira<sup>[20]</sup>. Tokom kasnijih faza zavisnih od FSH, androgeni promovišu ekspresiju aromataze, a u sinergiji sa FSH ekspresiju LH receptora na granuloza ćelijama. Povećana proizvodnja estradiola od strane dominantnog folikula smanjuje nivo FSH i dovodi do smrti subordinantnih folikula, a to na kraju rezultuje ovulacijom.

Ubrzana rana folikulogeneza u PCOS-u, koja se javlja se kao posljedica viška androgena u ovarijumima dovodi do sprečavanja sazrijevanja folikula prema dominantnoj fazi i uspostavljanju viška malih folikula<sup>[16]</sup>. Prerana luteinizacija pod uticajem androgena, kao i izražena konverzija androgena u estrogene dovodi do relativnog smanjenja FSH u odnosu na LH i anovulacije. Prekid sazrijevanja folikula može biti indirektna posljedica porasta AMH zbog ubrzane rane folikulogeneze, te inhibitornog dejstva AMH na odgovor antralnih folikula na FSH<sup>[18]</sup>. Takođe, poremećaji lokalnih intraovarijalnih regulatornih faktora folikulogeneze, kao što je insulinu sličan faktor rasta (eng. *insulin-like growth factor*, IGF ) mogu biti uzrok anovulacije u PCOS-u<sup>[11]</sup>. Pojačana ekspresija vaskularnog endoteljnog faktora rasta (eng. *Vascular endothelial growth factor*, VEGF) u PCOS-u dovodi do pojačane vaskularizacije što

doprinosi većem rigiditetu strome ovarija i sprečavanju sazrijevanja folikula<sup>[11]</sup>. Pojačana vaskularizacija vodi povećanom dopremanju inflamatornih citokina, čija je ekspresija takođe pojačana lokalno u granuloza ćelijama<sup>[21]</sup>.

#### 1.1.2.3. Neuroendokrini poremećaj

Kod žena sa PCOS izmjenjena je sekrecija GnRH i gonadotropina uslijed čega dolazi do porasta cirkulišućeg LH, povećanog odnosa LH i FSH, povećanja frekvence i amplitude LH pulseva, kao i relativnog sniženja FSH. Početne odlike PCOS pojavljuju se tokom ranog puberteta, paralelno sa reaktivacijom hipotalamusnog GnRH pulsnog generatora, povećanom sekrecijom gonadotropina i potonjom povećanom proizvodnjom estrogena u jajnicima. Geni uključeni u funkcionalisanje hipotalamo-pituitarne osovine (HPO), kao što su geni za LH/gonadotropski receptor (LHCGR), FSHR i FSH-β polipeptid (FSHB) su identifikovani u GWAS (engl. *genome-wide association study*, GWAS), što upućuje na ulogu gonadotropina u patofiziologiji PCOS<sup>[22]</sup>.

Skorašnja istraživanja su pokazala da je porast LH prije rezultat poremećene negativne povratne spregre steroida jajnika (estrogena i progesterona), nego uzrok viška androgena<sup>[23]</sup>. Neuroni koji luče GnRH su lišeni većine receptora za polne hormone, koji su odgovorni za negativnu povratnu spregu, izuzev estrogenских receptora-β (Erβ), tako da je negativna povratna sprega steroida indirektna, posredovana neuronskim mrežama ushodno od GnRH neurona<sup>[23]</sup>.

Smanjena osjetljivost GnRH pulsnog generatora na progesteronsku negativnu povratnu spregu u vezi je sa ranom pojmom hiperandrogenizma i povezana sa povećanom sekrecijom LH u PCOS<sup>[24]</sup>. Višak androgena dovodi do povećane sekrecije LH u odgovoru na GnRH, a povećan testosteron u PCOS-u je udružen sa porastom rane sekrecije LH stimulisane sa GnRH<sup>[24]</sup>. Pokazano je da su povišen nivo insulina i insulinska rezistencija uključeni u izmjenjenu, povećanu neuroendokrinu sekreciju GnRH/LH<sup>[25]</sup>. Neophodno je centralno djelovanje insulina za pravilno funkcionalisanje gonadotropske osovine, a nedostatak signalizacije u mozgu praćen je smanjenim nivoom LH. Pokazano je da kod zdravih žena infuzija insulina dovodi do povećanja frekvence LH impulsa, dok su kod žena sa PCOS podaci nekonzistentni<sup>[25]</sup>.

#### 1.1.2.4. Hiperinsulinemija i insulinska rezistencija

Insulinska rezistencija (IR) i kompenzatorna hiperinsulinemija imaju važnu ulogu u patogenezi PCOS-a<sup>[26]</sup>. Insulinska rezistencija se generalno definiše kao stanje metabolizma čija je glavna odlika smanjena sposobnost ciljnih ćelija ovog hormona da odgovore na njega<sup>[27]</sup>, a javlja se kod 50–70% žena sa PCOS-om<sup>[2]</sup>. Hiperinsulinemija i IR su prisutne kod žena sa PCOS-om nezavisno od stepena gojaznosti i nivoa cirkulišućih androgena<sup>[26]</sup>. Normalno uhranjene adolescentkinje sa PCOS-om imaju perifernu IR, povećan sadržaj masti u jetri i mitohondrijalnu disfunkciju u mišićima u poređenju sa adolescentkinama normalne težine bez PCOS-a<sup>[28]</sup>.

Patogeneza insulinske rezistencije kod žena sa PCOS-om obuhvata interakciju genetskih faktora, uticaja okoline tokom intra- i ekstrauterinog života, kao i mogućnost adaptacije na povećan energetski unos.

Insulinsku rezistenciju u PCOS-u karakteriše smanjena osjetljivost i odgovor na insulinom posredovano iskorištavanje glukoze primarno u skeletnim mišićima i masnom tkivu, dok je osjetljivost na dejstvo insulina na steroidogenezu neizmjenjena, kako u jajnicima, tako i u nadbubrežnim žlijezdama, što predstavlja paradoks karakterističan za PCOS<sup>[26]</sup>.

Mehanizmi insulinske rezistencije u PCOS-u su još uvijek nepoznati. Pacijenti sa PCOS-om imaju sličnu količinu i afinitet insulinskih receptora u poređenju sa kontrolama, te insulinska rezistencija vjerovatno nastaje zbog promjena u kaskadi prenosa signala putem insulinskih receptora<sup>[29]</sup>. Defekti u prenosu insulinskog signala mogu biti naslijeđeni ili su posljedica adaptivnih mehanizama, kao što su gojaznost i hiperandrogenizam<sup>[30]</sup>. Prenatalna izloženost androgenima dovodi do povećanja broja beta ćelija i izmjenjene funkcije pankreasa sa hiperinsulinemijskim odgovorom na glukuzu, što je početak budućih metaboličkih poremećaja<sup>[31]</sup>.

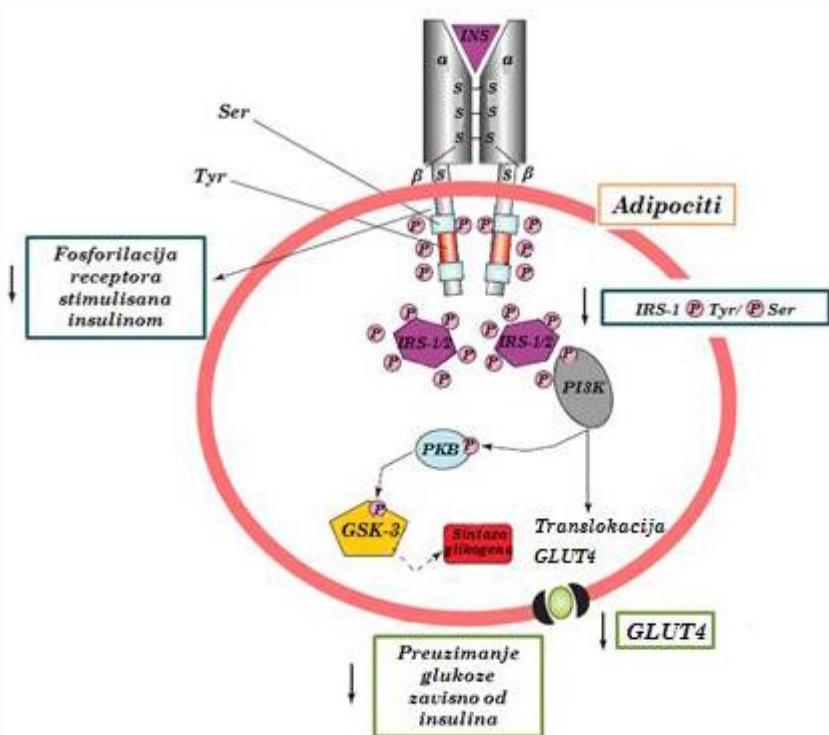
Insulinski receptori su prisutni u zdravim i policističnim ovarijima<sup>[26]</sup>. Signalni put insulin započinje vezivanjem ovog hormona za odgovarajući receptor na površini ćelije. Receptor za insulin je heterotetramer sačinjen iz dva α-β dimera međusobno povezanih bisulfidnim mostovima. Domen za vezivanje liganda nalazi se na α subjedinicama insulinskog receptora koje su smještene van ćelije. Sa druge strane, unutraćeelijski dio β subjedinice ima aktivnost kinaze tirozina, koja se aktivira poslije vezivanja insulina za

insulinski receptor i dalje autofosforiliše ostatke tirozina na  $\beta$  subjedinici. To dovodi do fosforilacije molekula supstrata insulinskog receptora (IRS, od eng. *insulin receptor substrate*), privremeno vezanih za aktivirani insulinski receptor. Fosforilisani dijelovi IRS-ova služe kao mjesta ukotvljavanja proteina koji sadrže domene homologe proteinu SRC2 (SH2, od eng. *Src homology 2*), kao što je fosfoinozitol-3-kinaza (PI3K, od eng. *phosphoinositide-3-kinase*). Aktivacija ovih proteina dovodi do fosforilacije protein kinaze B (PKB) koja fosforiliše kinazu sinteze glikogena tipa 3 (GSK-3, od eng. *glycogen synthase kinase-3*). Ona, najzad, aktivira sintezu glikogena u ciljnim ćelijama djelujući na odgovarajuću sintazu. Aktivacija PI3K dovodi i do translokacije transportera GLUT4 na membranu i povećanja preuzimanja glukoze u ciljne ćelije<sup>[32]</sup>.

Kod žena sa PCOS je pokazano postojanje poremećaja signalnog puta insulina: pojačana fosforilacija serinskih ostataka insulinskog receptora i IRS-1 signalnog molekula, što dovodi do poremećaja u prenosu insulinskog signala i nastanku insulinske rezistencije (Slika 3)<sup>[26]</sup>. Postreceptorski prenos insulinskog signala putem transkriptornog koregulatornog proteina *Kruppel-like faktor 15* u steroidogenim tkivima i masnom tkivu dovodi do ushodne regulacije produkcije testosterona putem povećane ekspresije gena HSD17B5, a takođe stimuliše adipogenezu u masnim depoima<sup>[33]</sup>. Ovaj signalni put je nepromjenjen u uslovima insulinske rezistencije<sup>[34]</sup>. Periferna rezistencija na insulin dovodi do povećane sekrecije insulina iz beta ćelija pankreasa i time do posljedične, kompenzatorne hiperinsulinemije, dok zadržana osjetljivost u ovarijumima pojačava lokalnu sekreciju androgena. Insulin, u sinergiji sa LH stimuliše aktivnost p450c17 u ovarijima, što dovodi do povećane sinteze androgena<sup>[35]</sup>. Teka ćelije pacijenata sa PCOS-om su više osjetljive na androgen-stimulišuće dejstvo insulina u odnosu na zdrave ovarije<sup>[26]</sup>. Prema tome, insulin može djelovati kao ko-gonadotropin u povećanoj sintezi androgena iz teka ćelija. Insulin i IGF-1 takođe stimulišu aktivnost p450c17 i 3 HSD2 enzima u nadbubrežima<sup>[36]</sup>.

Sistemska dejstva insulina u jetri gdje stimuliše smanjenje sekrecije globulina koji vezuje polne hormone i u nadbubrežnoj žlijezdi gdje pospješuje steroidogenezu, kao i dejstva u hipotalamusu kojima utiče na rad HHA i hipotalamo-hipofizno-gonadalne (HHG) ose, predstavljaju dodatne načine hiperinsulinemije i insulinske rezistencije da pojačaju hiperandrogenizam kod žena sa PCOS-om<sup>[37]</sup>. Hiperandrogenemija, s druge strane, može uticati na insulinsku osjetljivost povećavajući ekspresiju  $\beta$ 3-adrenergičkih receptora, i lipolizu u viscerálnom masnom tkivu što dovodi do povećanog oslobođanja FFA u cirkulaciju<sup>[27]</sup>. Takođe, visok nivo testosterona utiče na abdominalnu gojaznost, i tako posredno dovodi do

smanjene osjetljivosti na insulin. Između hiperandrogenemije i hiperinsulinemije se, dakle, uspostavlja jedan od začaranih krugova koji utiče na patogenezu i samopropagaciju PCOS-a.



Slika 3. Mogući poremećaji signalnog puta insulina u adipocitima žena oboljelih od PCOS-a.

Prilagođeno iz Diamanti-Kandarakis i Papavassiliou; 2006<sup>[32]</sup>

#### 1.1.2.5. Gojaznost u PCOS-u

Gojaznost, prvenstveno abdominalnog tipa, je važan klinički prediktor metaboličkih poremećaja koji se mogu naći u ranim stadijima PCOS-a ili prethode njegovom razvoju<sup>[2]</sup>. Tačna prevalenca gojaznosti u PCOS-u je nepoznata uslijed nedostatka populacionih istraživanja, ali se smatra da 38% do čak 88% oboljelih ima prekomjernu težinu, ili je gojazno<sup>[38]</sup>. Sadržaj masti u tijelu je prekomjeran za indeks tjelesne mase (ITM)<sup>[38]</sup>.

Studije rađene do sada nisu definisale smjer niti uzrok povezanosti gojaznosti i PCOS-a<sup>[39]</sup>. Ono što se zna je da su PCOS i gojaznost usko povezani i da gojaznost, prvenstveno abdominalnog/visceralnog tipa, pogoršava metaboličke, a takođe i reproduktivne aspekte PCOS-a<sup>[39]</sup>.

Masno tkivo je raspoređeno u tijelu u diskretnim anatomskim depoima<sup>[40]</sup>. Postoje dvije osnovne, funkcionalno i po porijeklu različite vrste masnog tkiva, bijelo i mrko masno tkivo.

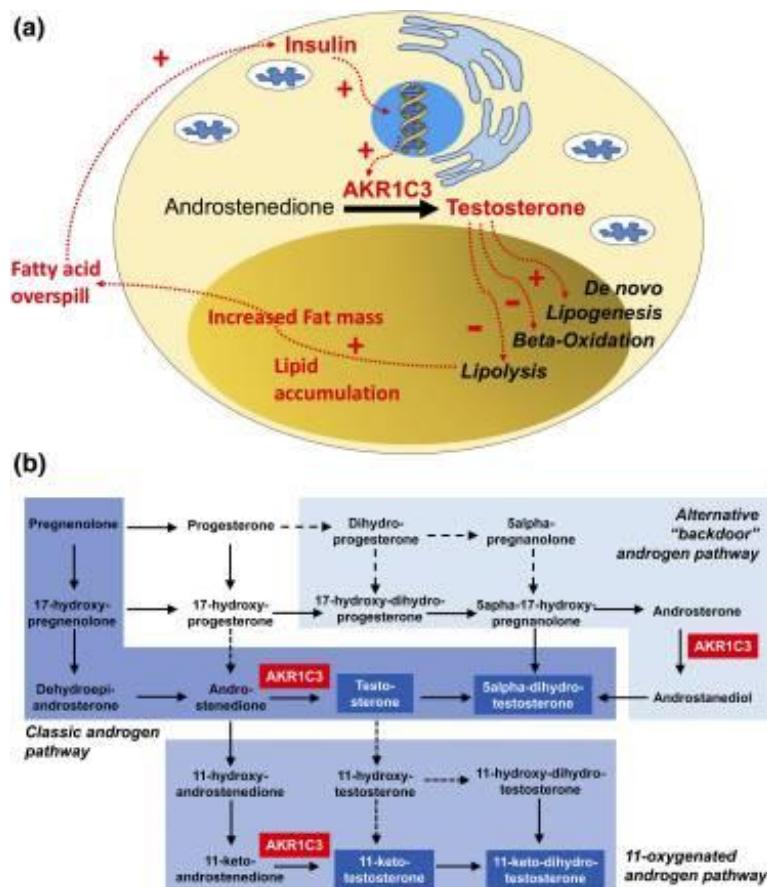
Gojaznost se primarno karakteriše povećanim skladištenjem lipida i ekspanzijom bijelog masnog tkiva<sup>[41]</sup>. Na patogenezu PCOS-a utiču defekti kako subkutanog, površinskog, tako i unutrašnjeg dijela bijelog masnog tkiva, viscerarnog masnog tkiva<sup>[38]</sup>. Raspodjela masti između različitih mesta skladištenja ima uticaj na metaboličke posljedice. Brojne studije su pokazale da je centralna/abdominalna gojaznost, koja podrazumijeva uvećanje subkutanog masnog tkiva oko struka i ekspanziju viscerarnog masnog tkiva, povezana sa većim rizikom od razvoja dislikemije i kardiovaskularnih bolesti, dok gomilanje glutealnog subkutanog masnog tkiva ima protektivno dejstvo u odnosu na nastanak metaboličkih posljedica gojaznosti<sup>[41]</sup>. Istraživanja normalno uhranjenih žena sa PCOS-om su pokazala povećanje ukupnog abdominalnog masnog tkiva uslijed sklonosti gomilanju masnog tkiva intraabdominalno i povećanja populacije malih subkutanih abdominalnih adipocita<sup>[42]</sup>.

Signalni putevi insulina imaju veliki uticaj na veličinu i funkciju masnih depoa: stimulišu adipogenezu (razvoj preadipocita u adipocite) i lipogenezu, a inhibišu lipolizu<sup>[43]</sup>. *In vitro* studije su pokazale da subkutani abdominalni adipociti žena sa PCOS-om imaju smanjen transport glukoze indukovani insulinom, smanjen sadržaj GLUT-4 i smanjenu insulinom indukovani fosforilaciju kinaze glikogen-sintaze (GSK)-3β<sup>[44]</sup>. Ovakva disfunkcija adipocita u PCOS-u je povezana sa viškom androgena jer je pokazano da tretman testosteronom smanjuje insulinom indukovani unos glukoze u subkutane abdominalne adipocite, bez uticaja na insulinom indukovani mitogenezu<sup>[44]</sup>.

Masno tkivo, kao jedan od glavnih metaboličkih odjeljaka, je mjesto stvaranja androgena tokom procesa koji je regulisan mrežom aktivirajućih i inaktivirajućih enzima<sup>[45]</sup>. Enzim aldo-ketoreduktaza tip 1C (AKR1C3) pretvara androstenedion u testosteron. Enzim 5α-reduktaza tip 1 (SRD5A1) pretvara testosteron u DHT u perifernim tkivima i široko je rasprostranjen u masnom tkivu<sup>[46]</sup>. Pokazana je povećana ekspresija mRNA AKR1C3, a snižena SRD5A1 u subkutanom masnom tkivu žena sa PCOS-om, što upućuje da je enzim AKR1C3 glavni pokretač viška androgena u masnom tkivu<sup>[47]</sup>.

Androgeni regulišu proliferaciju i diferencijaciju adipocita, kao i ključne funkcije adipocita kao što su insulinska senzitivnost, lipidni metabolizam i produkcija adipokina<sup>[45]</sup>. U studijama *in vitro* androgeni povećavaju lipidnu akumulaciju u adipocitima, dok farmakološka inhibicija AKR1C3 redukuje višak androgena i posredno sprečava androgenima posredovanu lipogenezu u adipocitima. Takođe je pokazano da insulin povećava ekspresiju AK1C3, što sugerise postojanje začaranog kruga koji povezuje sintezu androgena i

akumulaciju lipida u adipocitima sa IR i hiperinsulinemijom (Slika 4)<sup>[47]</sup>. AKR1C3 igra glavnu ulogu u regulaciji aktivacije androgena u klasičnom i alternativnom putu sinteze androgena, kao i putu 11-oksigenaze.



Slika 4. (a) Šematski prikaz prepostavljene mehanističke veze između viška androgena, insulinske rezistencije i lipotoksičnosti u PCOS (b) Grafički prikaz glavnih puteva sinteze androgena. Androgeni sposobni za aktivaciju AR istaknuti bijelim fontom u plavim kućicama. Prilagođeno iz *O'Reilly* i sar.; 2017<sup>[47]</sup>.

Takođe je moguće da višak androgena potiče abdominalnu gojaznost od ranog uzrasta, utičući na insulinsku rezistenciju<sup>[48]</sup>. Između gojaznosti i hiperandrogenemije se, zapravo, uspostavlja začaranji krug koji pospešuje i reproduktivne i metaboličke probleme oboljelih od PCOS-a<sup>[49]</sup>. Gajaznost može izazivati poremećaje u ishrani i povećan unos, nastanak i nagomilavanje citotoksičnih produkata metabolizma ugljenih hidrata, što uzrokuje oštećenja svih tipova ćelija jajnika i poremećaje njihovog rada<sup>[49]</sup>.

Centralna gojaznost, međutim, u najvećoj mjeri utiče na patofiziologiju i samopropagaciju PCOS-a pospješivanjem hiperinsulinemije i insulinske rezistencije i hronične inflamacije niskog stepena, kao i uzrokovanjem generalnog stanja lipotoksičnosti<sup>[40,49]</sup>. U odnosu na abdominalnu, visceralna mast više utiče na insulinsku rezistenciju zbog pojačane lipolize u odgovoru na kateholamine, koji su glavni stimulator lipolize<sup>[50]</sup>. Pojačana lipoliza u visceralnom masnom tkivu žena sa PCOS uzrokuje insulinsku rezistenciju na nivou jetre zbog prekomjernog izlaganja jetre slobodnim masnim kiselinama (FFA, eng. *free fatty acids*) oslobođenim u portnu cirkulaciju<sup>[51]</sup>. FFA povećavaju i hepatičku proizvodnju i sekreciju lipoproteina izrazito niske gustine (VLDL, eng. *very low desity lipoproteins*) i apolipoproteina B i tako potencijalno izazivaju hepatosteatozu i masnu jetru. Osim toga, FFA smanjuju insulinsku osjetljivost u mišićima, u čemu najvjerovaljnije ima ulogu faktor rasta fibroblasta 19 (FGF19, eng. *fibroblast growth factor 19*)<sup>[52]</sup>. Visceralno masno tkivo ima tendenciju da se uvećava hipertrofijom, praćeno infiltracijom i unutartkivnom aktivacijom makrofaga i pojačanom sekrecijom proinflamatornih molekula, kako od strane makrofaga, tako i od strane samih adipocita. Producija antiinflamatornih molekula u hipertrofičnim adipocitima istovremeno je suprimirana<sup>[43]</sup>. U skladu sa "hipotezom prelivanja" (eng. *spillover hypothesis*) hipertrofija adipocita dovodi do hipoksije, sekrecije proinflamatornih citokina, viška FFA i "prelivanja" (*spillover*) zbog prevazilaženja granice širenja subkutanog masnog tkiva, invazije makrofaga i IR<sup>[43]</sup>. IR smanjuje supresiju lipolize u adipocitima, što dovodi do povećanog otpuštanja FFA i TG, koji se skladište ektopično u jetri, skeletnim mišićima, bubrežima i pankreasu jer je kapacitet skladištenja u masnom tkivu prevaziđen i dovode do insulinske rezistencije; dijabetesa tipa 2, sistemske inflamacije i kardiovaskularnih bolesti<sup>[52]</sup>. Neusklađenost između malog prenatalnog dobijanja na težini i ubrzanog postnatalnog dobitka u težini nosi povećan rizik od ektopičnog skladištenja masti, hepatičke steatoze i PCOS-a, moguće zbog smanjenog kapaciteta skladištenja masti subkutano jer se adipogeneza većinom dešava prije rođenja<sup>[53]</sup>. U eksperimentalnim modelima prenatalna izloženost androgenima smanjuje adipogenezu u subkutanom tkivu<sup>[54]</sup>.

Hiperandrogenizam takođe pogoršava inflamatorni odgovor jer priprema mononuklearne ćelije za sekreciju proinflamatornih citokina nakon unosa glukoze i zasićenih masti<sup>[55]</sup>. Inflamacija u hipertrofičnom masnom tkivu je važan, ali čini se nedovoljan činilac u patogenezi insulinske rezistencije u odsustvu prekomjerne težine. Normalno uhranjene žene sa PCOS, bez abdominalne gojaznosti su insulin rezistentne u prisustvu normalnih vrijednosti

proinflamatornih citokina kao što je TNF- $\alpha$ , a trećina normalno uhranjenih žena sa PCOS sa viškom abdominalne masti imaju povišen TNF- $\alpha$ , koji raste sa porastom ITM, paralelno sa porastom IR<sup>[55]</sup>.

Gojaznost je takođe snažno povezana sa nastankom T2DM u PCOS-u, vjerovatno putem dobro poznate veze gojaznosti i insulinske rezistencije. Longitudinalne studije su zapravo pokazale da postoji rizik dijabetesa vezan za sam sindrom, te da ovaj rizik raste sa ITM, a naročito je visok kod ITM>30<sup>[56]</sup>. Inflamacija u samom masnom tkivu, kao i hronična inflamacija niskog stepena pospješuje insulinsku rezistenciju na nivou organizma i, moguće putem ovih mehanizama, dovodi do T2DM i povećanog kardiovaskularnog rizika<sup>[57]</sup>.

Distribucija masnog tkiva u abdominalno/visceralno područje najvjerovalnije nije dovoljna da objasni sve metaboličke poremećaje kod žena sa PCOS. Međutim, ovakva distribucija zajedno sa količinom masnog tkiva značajno doprinosi ekspresiji i težini PCOS fenotipa<sup>[58]</sup>.

#### 1.1.2.6. Adiponektin i PCOS

Masno tkivo je aktivan endokrini organ koji proizvodi hormone zvane adipokini<sup>[59]</sup>. Adipokini, izuzev leptina i adiponektina koji se isključivo produkuju u adipocitima, se prvenstveno luče u makrofagima masnog tkiva. Gojaznost je praćena porastom broja makrofaga u subkutanom i visceralnom masnom tkivu, a pojačana sekrecija adipokina dovodi do metaboličkog sindroma i povećava rizik T2DM<sup>[60]</sup>. Adipokini uključuju proinflamatorne citokine/hemokine kao što su leptin, faktor tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) i interleukin-6<sup>[59]</sup>. Suprotno njima, adiponektin ispoljava antiinflamatorna svojstva na ćelijama.

Adiponektin je protein koji se stvara u bijelom masnom tkivu i izlučuje u cirkulaciju<sup>[61]</sup>. Cirkulišući nivo adiponektina je u inverznom odnosu sa masom adipocita i visceralnim adipozitetom<sup>[61]</sup>. Ispitivanja masnog tkiva kod žena sa PCOS su pokazala da je ekspresija mesindžer RNA (mRNA) za adiponektin značajno niža kod žena sa PCOS u poređenju sa ženama iste težine bez PCOS<sup>[61]</sup>. Ova smanjena ekspresija, koja se javlja i u potkožnom i visceralnom masnom tkivu, je u skladu s nižim nivoom cirkulišćeg adiponektina kod žena sa PCOS.

Snižen nivo adiponektina (hipoadiponektinemija) je povezan sa povećanim rizikom za insulinsku rezistenciju i T2DM<sup>[62]</sup>. Skorašnji podaci *in vitro* studija i animalnih studija ukazuju da adiponektin povećava insulinsku senzitivnost tako što smanjuje jetrenu glukoneogenezu i povećava preuzimanje glukoze i oksidaciju SMK u skeletnim mišićima<sup>[61,63]</sup>.

Kod insulin senzitivnih osoba masno tkivo sekretuje veće količine adiponektina, ali kako gojaznost napreduje opada sekrecija adiponektina<sup>[40]</sup>. Opadanje nivoa u plazmi, kao i smanjenje broja receptora za adiponektin javljaju se sa razvojem insulinske rezistencije, T2DM, metaboličkog sindroma i s gojaznošću povezane kardiovaskularne bolesti<sup>[62]</sup>. Postoji negativna korelacija adiponektina sa insulinskom senzitivnošću kod žena sa PCOS<sup>[10,64]</sup>. Specifična uloga adiponektina u ovim metaboličkim stanjima je nejasna: može imati uzročnu ulogu ili reguliše insulin i služi kao marker insulinske rezistencije. Bilo koja da mu je uloga, adiponektin je povezan sa insulinskom rezistencijom i služi kao marker insulinske rezistencije<sup>[64]</sup>.

Kod žena sa PCOS je nađen snižen nivo adiponektina u poređenju sa kontrolama identičnog ITM, nezavisno od distribucije masti i stepena insulinske rezistencije, što upućuje da cirkulišući adiponektin može igrati ulogu u patogenezi PCOS-a<sup>[65]</sup>. Druge studije nisu našle razliku kod pacijentica sa i bez PCOS-a nakon kontrole gojaznosti<sup>[66]</sup>. Adiponektin može imati direktni učinak na ovarijalnu funkciju, s obzirom da su receptori za adiponektin nađeni na ovarijumima i endometrijumu<sup>[45]</sup>. Brojni povoljni efekti adiponektina na reproduktivni sistem uključuju uticaj na reproduktivnu endokrinu osovini žena putem specifičnih receptora za adiponektin u hipotalamusu i hipofizi<sup>[45]</sup>. Takođe, poznat je uticaj adiponektina na modulaciju ovulacije i regulaciju sinteze steroidnih hormona. Stimulacija adiponektinom povezana je sa smanjenjem produkcije androgena u jajnicima<sup>[67]</sup>.

Višak androgena smanjuje produkciju adiponektina i doprinosi insulinskoj rezistenciji u adipocitima<sup>[68]</sup>. Međutim, s obzirom na različite rezultate studija, kao i metaanaliza, povezanost PCOS-a sa hipoadiponektinemijom i nađena inverzna korelacija između nivoa adiponektina i slobodnog testosterona u serumu ne daju utemeljen zaključak o mogućoj uzročnoj ulozi viška androgena na hipoadiponektinemiju<sup>[69]</sup>.

Pacijenti sa PCOS se nalaze u začaranom krugu koga čine višak androgena koji favorizuje abdominalno gomilanje masti i disfunkciju visceralnog masnog tkiva koja indukuje

hipoadiponektinemiju, insulinsku rezistenciju i kompenzatorni hiperinsulinizam, koji dalje potiču sekreciju androgena u jajnicima i nadbubrežnim žlijezdama<sup>[70]</sup>.

Postoje dva membranska receptora za adiponektin koji posreduju u njegovom efektu na snižavanje glukoze, kao i antiinflamatornim efektima: adiponektin receptor 1 (adipo R1) i adiponektin receptor 2 (adipo R2)<sup>[71]</sup>. Normalno postoji smanjena ekspresija ovih receptora u gojaznosti<sup>[64]</sup>. Međutim, kod žena sa PCOS postoji ushodna regulacija ovih receptora i u potkožnom i u viscerálnom masnom tkivu u poređenju sa ženama bez PCOS. Ekspresija ovih receptora je prisutna i u potkožnom i viscerálnom masnom tkivu, mada više u potkožnom<sup>[71]</sup>. Kod svih žena, ekspresija adipo R1 pokazuje pozitivnu korelaciju sa insulinom, androgenim indeksom (testosteron/SHBGx100) i testosteronom u oba tipa masnog tkiva i negativnu korelaciju sa SHBG. Takođe, terapija sa testosteronom i estradiolom u tkivima povećava ekspresiju ovih receptora. Prethodne studije pokazale su da viši nivoi polnih steroida (testosterona i estradiola) i niži nivoi SHBG koreliraju sa insulinskog rezistencijom<sup>[72]</sup>. Posljedično, viši nivoi androgena su moguće objašnjenje zašto žene sa PCOS imaju veću ekspresiju ovih receptora u odnosu na žene bez PCOS, čak i kad su njihovi ITM i koncentracije adiponektina podjednake. Pretpostavlja se da ushodna regulacija ovih receptora može biti kompenzatorni mehanizam da bi se donekle postigla insulinska senzitivnost kod žena sa PCOS<sup>[71]</sup>.

Povezanost adiponektina sa PCOS je teško utvrditi jer se varijacije nivoa adiponektina javljaju nezavisno od gojaznosti, što se ne dešava kod žena bez PCOS. Mišljenje da je ushodna regulacija receptora za adiponektin u masnom tivu žena sa PCOS kompenzatorni mehanizam suprostavljanja insulinskoj rezistenciji dodatno potkrepljuje činjenicu da se nešto jedinstveno događa u PCOS-u, jer nivo adiponektina i ekspresija receptora normalno opadaju sa gojaznošću.

## 1.2. Kardiometabolički rizik u PCOS-u

Povezanost PCOS sa metaboličkim i kardiovaskularnim faktorima rizika, navjerovatnije putem insulinske rezistencije, dovodi do povećanog rizika za kardiovaskularne bolesti i tip 2 dijabetesa (T2DM)<sup>[73]</sup>. Brojne kliničke studije su pokazale veću prevalencu intolerancije na glukozu i T2DM kod žena sa PCOS u poređenju sa ženama iste starosti bez PCOS<sup>[74]</sup>.

Sadašnji epidemiološki podaci ukazuju na povećanu prevalencu klasičnih i neklasičnih kardiovaskularnih faktora rizika kod žena sa različitim fenotipovima PCOS prema definiciji iz Rotterdam-a. Prema podacima nedavnih studija fenotipska varijabilnost, prvenstveno ovarijalna funkcija i hiperandrogenizam, najviše utiče na metabolički i kardiovaskularni rizik žena sa PCOS<sup>[75]</sup>.

Međutim, nedostaju prospektivne, longitudinalne studije dugoročnih zdravstvenih ishoda žena sa PCOS. Važan doprinos u ovom polju pružaju genetski dokazi o metaboličkim faktorima kao što su gojaznost i insulinska rezistencija u etiologiji PCOS-a. U studiji na kćerkama žena sa PCOS autori su utvrdili ranu disfunkciju beta-ćelija kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih ženskih srodnika žena sa PCOS što upućuje da se funkcija beta ćelija i insulinska senzitivnost mogu razlikovati kod žena predisponiranih za razvoj PCOS počevši od djetinjstva i rane adolescencije<sup>[76]</sup>. U skladu s tim, rana identifikacija rizika i implementacija strategija za prevenciju T2DM mogu biti od koristi.

### **1.2.1.Kardiovaskularni faktori rizika u PCOS-u**

#### **1.2.1.1. Intolerancija na glukozu i T2DM**

PCOS predstavlja jadan od vodećih faktora rizika za poremećaj glikemije i T2DM kod žena<sup>[74]</sup>. Pošto glavni defekt u dejstvu insulin-a u PCOS-u predstavlja insulinom posredovano preuzimanje glukoze na periferiji, više nego insulinom posredovana proizvodnja glukoze u jetri, poremećaj glikemije se uglavnom manifestuje kao intolerancija na glukozu (engl. *impaired glucose tolerance*, IGT), a ne oštećena glikemija našte (engl. *impaired fasting glycemia*, IFG)<sup>[74]</sup>. Gojaznost i porodična istorija T2DM su nezavisni dodatni faktori rizika koji povećavaju rizik IGT i T2DM. Međutim, iako postoji značajan porast incidence T2DM sa porastom gojaznosti kod žena sa PCOS, nedavna studija je pokazala da PCOS nosi povećan rizik od dijabetesa čak i kod mršavih žena<sup>[77]</sup>. S obzirom da se u PCOS-u radi uglavnom o poremećaju postprandijalne glikemije, za detekciju poremećaja glikemije neophodan je dvočasovni test opterećenja glukozom<sup>[78]</sup>. Postoji mali broj studija koje su pratile stopu konverzije IGT u T2DM koje su procijenile da je godišnja stopa konverzije IGT u T2DM otprilike polovina one u opštoj populaciji, a koja iznosi 7%<sup>[79]</sup>. Potrebne su veće prospektivne longitudinalne studije koje će procijeniti tok IGT ili T2DM u PCOS-u.

#### 1.2.1.2. Insulinska rezistencija i endotelna disfunkcija

Gojaznost i PCOS djeluju sinergistički na smanjenje insulinske senzitivnosti što dovodi do visoke prevalence insulinske rezistencije kod žena sa PCOS. Dobijanje na težini je povezano sa porastom IR, ali je porast IR značajno veći kod žena sa PCOS u odnosu na žene iste starosti i indeksa tjelesne mase (ITM) bez PCOS<sup>[10]</sup>.

Insulinska rezistencija na endotelnim ćelijama arterija dovodi do smanjene sinteze i oslobađanja azotnog oksida (NO), pojačane inaktivacije NO nakon oslobađanja iz endotela i pojačane sinteze vazokonstriktornih agenasa što dovodi do povećane krutosti arterijskog zida i smanjenog vazodilatatornog dejstva insulina, kao što je pokazano kod žena sa PCOS<sup>[80]</sup>. Hiperinsulinemija dovodi do direktnog hipertrofičnog efekta na endotel i glatke mišićne ćelije i zajedno sa insulinskog rezistencijom stimuliše sekreciju endotelina-1, što dovodi do pogoršanja endotelne disfunkcije<sup>[80]</sup>.

#### 1.2.1.3. Metabolički sindrom i dislipidemija u PCOS-u

Metabolički sindrom (MS) je grupisanje kardiometaboličkih faktora rizika povezanih sa povećanim rizikom za T2DM i kardiovaskularnu bolest. Postoje brojni dijagnostički kriteriji za MS, koje zajedno karakterišu povezanost centralne gojaznosti, hipertrigliceridemije, sniženih vrijednosti HDL, povećanog sistolnog i/ili dijastolnog krvnog pritiska i povećane glikemije našte (81). Rizik metaboličkog sindroma raste sa gojaznošću i zavisi od nacionalne i etničke pripadnosti, sa nižom prevalencom u Evropi u odnosu na SAD, što upućuje na ulogu određenih faktora okoline u nastanku MS kod žena sa PCOS u SAD<sup>[81]</sup>.

Dislipidemija je, sa učestalošću od oko 70%, najčešći metabolički problem u PCOS-u<sup>[2]</sup>. Žene sa ovim sindromom imaju tzv. aterogeni lipoproteinski profil, koji se karakteriše hipertrigliceridemijom, niskim nivoom lipoproteina visoke gustine HDL (od eng. *high density lipoproteins*) i povećanim prisustvom malih, gustih lipoproteina niske gustine LDL (od eng. *low density lipoproteins*), tipičan za stanja insulinske rezistencije, dok je LDL holesterol više androgen zavisan<sup>[82]</sup>. Gojaznost, insulinska rezistencija i hiperandrogenizam doprinose dislipidemiji u PCOS-u<sup>[83]</sup>.

Mehanizmi kojim gojaznost utiče na dislipidemiju kod žena sa PCOS uključuju insulinsku rezistenciju, prekomjernu produkciju VLDL, poremećaj lipolize uzrokovan

aktivnošću lipoproteinske lipaze i defekt u signalnom putu insulina zbog prekomjerne ekspresije PI3KR1 gena<sup>[83]</sup>. Insulinska rezistencija je povezana sa hipertrigliceridemijom putem povećane hepatičke proizvodnje lipoproteina VLDL koji sadrži apoB<sup>[83]</sup>. Povećana izloženost androgenima dovodi do dislipidemije putem različitih mehanizama posredovanih androgenim receptorima ili aktivnošću lipoproteinske lipaze, kao i ushodnom regulacijom gena odgovornih za katabolizam HDL<sup>[27,83]</sup>.

Na povezanost ITM sa težinom dislipidemije utiče etničko porijeklo žena sa PCOS. Kod nekih evropskih populacija nivo HDL-a je bio značajno niži, a LDL-a viši u poređenju sa drugim populacijama<sup>[84]</sup>. Žene sa PCOS imaju više nivoe LDL holesterola, nezavisno od gojaznosti<sup>[84]</sup>. Kod žena sa PCOS nađene su čestice LDL veće aterogenosti, što ukazuje da višak androgena modifikuje LDL u ranom periodu života i tako produžava period oksidativne transformacije i moguće povećava aterogeni potencijal<sup>[85]</sup>. LDL se mora oksidovati prije preuzimanja od strane makrofaga, što čini oksidovani LDL (oxLDL) aterogenim oblikom LDL. Nivo oxLDL-a je povišen kod pacijenata sa PCOS u poređenju sa kontrolama iste tjelesne težine<sup>[85]</sup>. Nisu nađene razlike u nivou oxLDL između normalno uhranjenih i prekomjerno uhranjenih žena sa PCOS, što govori u prilog minorne povezanosti tjelesne težine i oxLDL<sup>[85]</sup>. Nađena je povezanost oxLDL i slobodnog testosterona, ali sa nestankom značajnosti nakon korekcije za ITM<sup>[83,85]</sup>. Prema tome, povećan nivo oxLDL u PCOS-u je čini se više vezan za insulinsku rezistenciju nego hiperandrogenemiju u PCOS-u.

#### 1.2.1.4. Hipertenzija

Hipertenzija značajno doprinosi riziku KVB. Prevalenca hipertenzije kod žena sa PCOS se kreće u opsegu od 10-40%<sup>[86]</sup>. Gojaznost može imati uticaj na krvni pritisak u PCOS-u. Međutim, u studiji provedenoj u Australiji, hipertenzija u PCOS-u nije bila udružena sa ITM, što upućuje da kardiometabolički poremećaji u PCOS-u mogu biti nezavisni od tjelesne težine<sup>[87]</sup>. Nekoliko drugih mehanizama je potencijalno uključeno u patogenezu hipertenzije u PCOS-u. Povećanje krvnog pritiska može nastati zbog IR i kompenzatorne hiperinsulinemije koja uzrokuje disbalans autonomnog nervnog sistema, povećanu resorpciju natrijuma u bubrežima, kao i smanjenje produkcije azotnog oksida. Kod mladih žena sa PCOS visok nivo indeksa slobodnih androgena (FAI) je povezan sa hipertenzijom nezavisno od insulinske rezistencije, gojaznosti i dislipidemije<sup>[88]</sup>.

Studije su pokazale da žene sa PCOS imaju više nivoa aldosterona nego kontrole iste starosti i ITM-a, iako u granicama normale. Hipertenzija kod žena sa PCOS potiče od hiperaldosteronizma putem aktivacije renin-angiotenzin sistema<sup>[89]</sup>.

Društvo za povećan nivo androgena i PCOS preporučuje mjerjenje krvnog pritiska prilikom svake posjete te otkrivanje i terapiju prehipertenzije i hipertenzije, imajući u vidu potencijalnu korist snižavanja krvnog pritiska u prevenciji KVB<sup>[90]</sup>.

### 1.3. PCOS i subklinička KVB

Žene sa PCOS karakteriše niz metaboličkih abnormalnosti koji se smatraju važnim faktorima u nastanku ateroskleroze i mogu razviti subkliničku kardiovaskularnu bolest tokom života<sup>[2]</sup>. Insulinska rezistencija, dislipidemija i poremećaji ugljenohidratnog metabolizma su metabolički poremećaji vrlo često udruženi sa PCOS, čak i kod mršavih žena sa PCOS, i dovode se u vezu sa nastankom kardiovaskularnih poremećaja<sup>[88,91]</sup>.

Najraniji znak subkliničke ateroskleroze je endotelna disfunkcija, za koju je pokazano da je povezana sa višim nivoom androgena i insulinskog rezistencijom<sup>[80,92]</sup>. Endotelna disfunkcija je uočena već u ranim godinama, sa tendencijom pogoršanja od mršavih prema prekomjerno uhranjenim i gojaznim ženama sa PCOS<sup>[80,93]</sup>.

Pored ranog funkcionalnog oštećenja vaskularnog zida, morfološki znak rane ateroskleroze u vidu zadebljanja intime-medije karotidnih arterija je visoko prevalentan kod mladih žena sa PCOS<sup>[94]</sup>. Pokazano je i da su žene sa PCOS starije od 45 godina imale značajno veći odnos debljine intime i medije u odnosu na kontrolnu grupu<sup>[95]</sup>, što ukazuje na to da žene sa PCOS imaju veći rizik za nastajanje rane ateroskleroze.

Kod žena sa PCOS takođe je nađena veća učestalost i proširenost kalcifikacija na koronarnim arterijama, neovisno o godinama i ITM<sup>[96]</sup>. Subanaliza velike multicentrične studije pokazala je da žene sa prisutnom hiperandrogenemijom i oligomenorejom imaju povećanu prevalencu koronarnih kalcifikacija i debljinu intime-medije, dok žene sa izolovanom oligomenorejom ili hiperandrogenemijom nemaju povećan rizik<sup>[96]</sup>. Prema tome, rizik koronarne bolesti može biti povećan samo kod žena koje ispunjavaju NIH kriterije za PCOS.

Vaskularne kalcifikacije dovode do povećanja krutosti zida i brzine pulsnog talasa, a zajedno sa endotelnom disfunkcijom i zadebljanjem intime-medije ukazuju na rani proces aterogeneze potaknut insulinskom rezistencijom i drugim faktorima kardiovaskularnog rizika prisutnim kod žena sa PCOS bez očigledne kardiovaskularne bolesti<sup>[95]</sup>.

### 1.3.1. Uloga hronične inflamacije

Pokazano je da potencijal za ranu aterosklerozu izražen kroz promjene krvnog pritiska i lipida nezavisno od ITM raste kod žena starosti preko 30 godina<sup>[88]</sup>. Različiti kardiovaskularni faktori rizika su prisutni kod žena sa PCOS, ali su još uvijek kontroverzni podaci o inflamatornim faktorima, uključujući C reaktivni protein. Faktori inflamacije kao što je faktor stimulacije kolonija makrofaga (engl. *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*, GM-CSF), transformirajući faktor rasta-β (engl. *transforming growth factor-β*), Il- i C-reaktivni protein (CRP) su uključeni u proces aterogeneze i doprinose nestabilnosti plaka, trombozi i komplikacijama ateroskleroze<sup>[78]</sup>. C-reaktivni protein i fibrinogen su reaktanti akutne faze inflamacije i značajni markeri subkliničke faze ateroskleroze. Proizvode ih hepatociti tokom stimulacije proinflamatornim citokinima kao što su IL-6 i TNFα, dok CRP nastaje direktno i u masnom tkivu<sup>[97]</sup>. Novija istraživanja ispituju protrombotičku ulogu CRP-a u procesu ateroskleroze, kao i ulogu CRP-a u procesu aktivacije sistema komplementa, te je sve veći broj dokaza koji podržavaju pretpostavku da CRP nije samo marker već i medijator procesa inflamacije<sup>[98]</sup>.

Brojni istraživači su našli povišene koncentracije CRP kod mršavih i gojaznih žena sa PCOS u poređenju sa kontrolama odgovarajućeg ITM<sup>[99]</sup>. Za razliku od prethodnih, rezultati drugih studija našli su sličan nivo CRP u grupi sa PCOS i kontrolnoj grupi i zaključili da je tjelesna masa najjača determinanta koncentracije CRP kod premenopauzalnih žena sa PCOS<sup>[100]</sup>. CRP zavisi od količine masnog tkiva, posebno viscerarnog, ali takođe i od insulinske rezistencije<sup>[99,100]</sup>. U studiji ispitivanja endotelne funkcije kod žena sa PCOS autori su ispitivali plazmatski nivo endotelina 1 (ET-1), solubilne intercelularne adhezione molekule 1 (engl. *soluble intercellular adhesion molecule-1*, sICAM-1), solubilne vaskularne celularne adhezione molekule (engl. *soluble vascular cell adhesion molecule-1*, svCAM-1) i visoko senzitivnog CRP i pokazali da postoji povišen nivo i markera inflamacije i endotelne aktivacije kod žena sa PCOS<sup>[99]</sup>. Ovo govori u prilog hipoteze da hronična inflamacija doprinosi endotelnoj disfunkciji.

### **1.3.2. Uloga oksidativnog stresa**

Poznato je da kod žena sa PCOS dolazi do povećane produkcije slobodnih radikala, što uz pad nivoa antioksidanata u serumu dovodi do stanja oksidativnog stresa<sup>[101]</sup>. Molekularni mehanizmi koji dovode do nastanka oksidativnog stresa kao i njihova veza sa insulinskom rezistencijom i hiperandrogenizmom kod pacijentkinja sa PCOS još uvijek nisu dovoljno jasni. Čini se da hiperandrogenizam predstavlja glavni pokretač povećane proizvodnje reaktivnih kiseoničnih vrsta (eng. *reactive oxygen species*, ROS). Takođe je poznato da su markeri oksidativnog stresa povezani sa indeksima rezistencije na insulin<sup>[102]</sup>.

Oksidativni stres, s druge strane, može podstaknuti ekspresiju steroidogenih enzima jajnika koji su uključeni u proizvodnju androgena i proliferaciju tekaćelija jajnika. Štaviše, oksidativni stres ometa signalizaciju insulina što rezultira kompenzatornom hiperinsulinemijom koja može dodatno stimulisati stalnu steroidogenezu. Oksidativni stres dovodi do sistemske inflamacije, a zajedno sa insulinskom rezistencijom i posljedičnom hiperinsulinemijom do disregulacije tekaćelija i disfunkcije endotela što uzrokuje hiperandrogenizam, anovulaciju i kardiovaskularne poremećaje<sup>[91]</sup>.

## **1.4. PCOS i klinička KVB**

Iako kod mladih žena sa PCOS uglavnom dominiraju simptomi hirsutizma i menstrualni poremećaji sa infertilitetom, sada se zna da prateći metabolički poremećaji u PCOS-u i njihove posljedice mogu postati značajan problem u kasnijim godinama. Kontroverzni su podaci o kardiovaskularnim oboljenjima i njihovim ishodima kod žena sa PCOS sa ulaskom u menopauzu. Metaanaliza osam studija na 128.977 žena starosti 36-71 godina, sa trajanjem praćenja od 10-40 godina, pokazala je povećan rizik moždanog udara kod žena sa PCOS, ali se značajnost izgubila nakon kontrole ITM-a<sup>[103]</sup>. Suprotno tome, studija Danskog nacionalnog registra koja je uključivala žene prosječne starosti 29 godina koje su praćene u prosjeku 11 godina, našla je da žene sa PCOS imaju veći rizik kardiovaskularne bolesti sa stopom događaja 22,6 nasuprot 13,2 u poređenju sa kontrolama<sup>[104]</sup>. Mogući razlozi nekonistentnosti nalaza o kardiovaskularnom riziku mogu se objasniti razlikama u starosti pacijentica u studijama i relativno kratkom vremenu praćenja.

## **1.5. Insulinski senzitajzeri u terapiji PCOS-a**

Insulinski senzitajzeri su komponente koje pozitivno utiču na insulinsku senzitivnost u ciljnim ćelijama. Učestvuju u kontroli glavnih puteva koji regulišu dejstvo insulina na nivou ćelija, posebno u insulin-senzitivnim tkivima kao što su jetra, mišići i masno tkivo. Upotreba lijekova koji djeluju na smanjenje IR značajno popravlja metaboličko stanje, ovulatornu funkciju i stopu fertiliteta, jer insulinska rezistencija i hiperinsulinemija igraju važnu ulogu u patogenezi PCOS-a<sup>[105]</sup>. Ovo je relativno nov terapijski pristup usmjeren na popravljanje IR i modifikaciju uticaja hiperinsulinemije ne samo na klasična insulin-senzitivna tkiva, nego i ovariјe.

Postoje dvije grupe insulinskih senzitajzera korištene u kliničkim studijama u terapiji PCOS. Jedna grupa su bigvanidi, posebno metformin, a drugo su grupa inozitola. S obzirom da metformin često uzrokuje sporedne efekte, predložene su nove terapijske strategije za tretman insulinske rezistencije, kao što je upotreba inozitola. Kod ljudi ova jedinjenja uglavnom čine dva stereoizomera inozitola: mioinozitol i D-hiroinozitol. Mioinozitol (MI) je prekursor inozitol trifosfata, sekundarnog prenosnika u insulinskom putu. Mioinozitol je široko rasprostranjena forma inozitola u prirodi i ljudskom organizmu i pripada familiji vitamina B grupe sa dejstvom sličnim insulinu. Mada su ova dva terapijska režima ispitivana u populaciji pacijentica sa PCOS, malo je studija koje su direktno poredile terapijske režime metforminom i mioinozitolom na metabolički i hormonski profil pacijentica sa PCOS.

### **1.5.1. Metformin u terapiji PCOS**

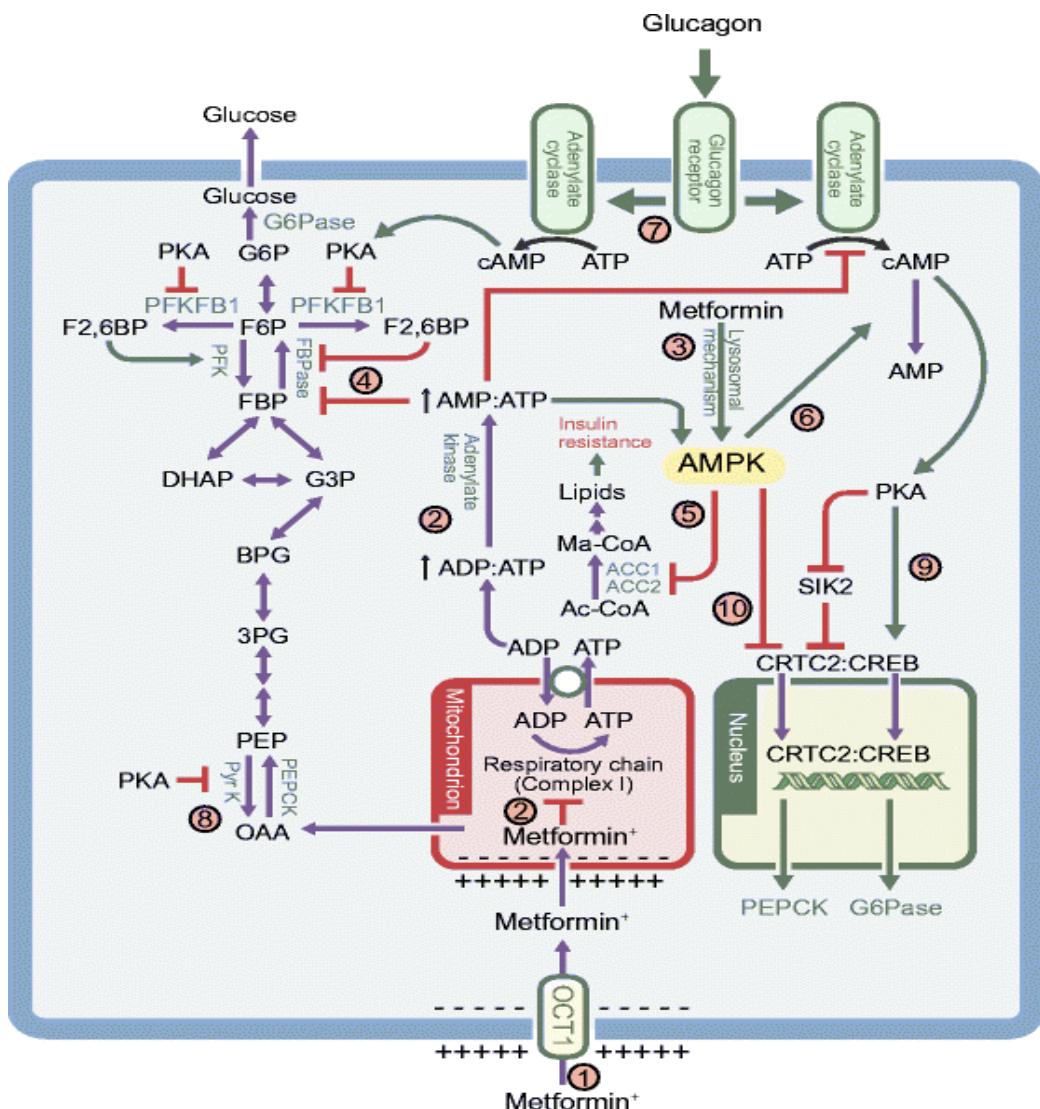
Metformin je najšire korišteni insulinski senzitajzer za tretman žena sa insulinskom rezistencijom i PCOS. Povoljni efekti terapije metforminom su usmjereni na kardiometaboličke i reproduktivne poremećaje koji karakterišu sindrom sa umjerenom ili nikakvom efikasnošću na hiperandrogene simptome<sup>[78]</sup>.

#### **1.5.1.1 Mehanizam dejstva metformina u ciljnim tkivima u PCOS-u**

Metformin djeluje na brojna tkiva od značaja za metaboličke i reproduktivne poremećaje u PCOS-u: jetru, skeletne mišiće, masno tkivo i jajnike. Glavno dejstvo metformina je smanjenje otpuštanja glukoze u jetri, iako mehanizam nije precizno utvrđen.

Ranije shvatanje da metformin smanjuje sintezu glukoze putem aktivacije AMPK je upitno jer skorašnji podaci ukazuju da smanjeno otpuštanje glukoze iz jetre nastaje zbog inhibicije transporta elektrona u mitohondrijama, kao i inhibicije dejstva glukagona u jetri (Slika 5)<sup>[106]</sup>. Metformin suprimuje lipolizu, modulira sekreciju adipokina i smanjuje lipogenezu u masnom tkivu<sup>[105]</sup>. U skeletnom mišiću, metformin povećava bazalno i insulinom posredovano preuzimanje glukoze, moguće zbog redukcije glukotoksičnosti i lipotoksičnosti dejstvom na nivou jetre i masnog tkiva<sup>[105]</sup>.

Metformin ima direktna i indirektna dejstva na produkciju androgena u jajniku. Originalna istraživanja su pokazala smanjenje aktivnosti CYP17A1 kod žena sa PCOS nakon tretmana metforminom zbog smanjenja sekrecije insulina<sup>[107]</sup>. Međutim, postoje podaci da metformin direktno inhibira steroidogenezu u jajnicima<sup>[108]</sup>. Inhibicija mitohondrijalnog kompleksa I je jedan od potencijalnih mehanizama ovog dejstva<sup>[107]</sup>. Takođe se zna da metformin smanjuje nivo androgena putem inhibitornog efekta na 3β-hidroksisteroid dehidrogenazu<sup>[109]</sup>.



Slika 5. Multipli molekularni mehanizmi dejstva metformina u jetri. Prilagođeno iz Rena i sar.; 2017<sup>[106]</sup>. Unos metformina u hepatocite je katalizovan pomoću organskog katjonskog transporter-a-1 (OCT1) (1). Lijek se akumulira u ćeliji, a dalje u mitohondrijama zbog membranskog potencijala na plazmatskoj membrani i unutrašnjoj membrani mitohondrija (2). Metformin inhibira Complex I, sprečavajući proizvodnju ATP i povećava odnos ADP:ATP i AMP:ATP u citoplazmi, što aktivira AMPK (3). Alternativno, AMPK može biti aktivirana mehanizmima posredovanim lizozomima (4). Porast odnosa AMP:ATP takođe inhibira fruktoza-1,6-bisfosfatazu (FBPase), što dovodi do akutne inhibicije glukoneogeneze, a takođe inhibicije adenilatne ciklaze i smanjenja sinteze cAMP (5). Aktivirana AMPK fosforiliše ACC1 i ACC2, izoforme ACC, inhibišući sintezu masti i podstičući oksidaciju, što smanjuje skladištenje lipida i poboljšava insulinsku senzitivnost u jetri (6). AMPK takođe fosforiliše i aktivira cAMP-specifičnu 3',5'-cikličnu fosfodiesterazu 4B (PDE4B), i tako snižava cAMP drugim mehanizmom (7). Glukagonom-indukovan porast cAMP aktivira cAMP-zavisnu protein kinazu A (PKA), što uzrokuje skretanje sa glikolize u glukoneogenezu putem fosforilacije i inaktivacije PFKFB1, što dovodi do smanjenja fruktoza-2,6-bifosfata (F2,6BP), alosteričkog aktivatora fosfofruktokinaze (PFK) i inhibitora fruktoza1,6-bisfosfataze (FBPase) (8). PKA takođe fosforiliše i inaktivira izoformu jetrenog enzima piruvat-kinaze (Pyr K) (9) i fosforiliše transkriptorni faktor cAMP responsivnog elementa vezujućeg proteina (CREB), što indukuje transkripciju gena koji kodiraju enzime glukoneogeneze PEPCK i G6Pase (10). Ac-CoA, acetil-CoA; BPG, 1,3-bisfosfoglicerat; DHAP, dihidroksiaceton fosfat; FBP, fruktoza 1,6-bisfosfat; F6P, fruktoza 6-fosfat; G3P, gliceraldehid 3-fosfat; G6P, glukoza 6-fosfat; Ma-CoA, malonil-CoA; OAA, oksaloacetat; PEP, fosfoenolpiruvat; 3PG, 3-fosfoglicerat.

### 1.5.1.2. Uticaj metformina na reproduktivne odlike PCOS

#### 1.5.1.2.1. Efekat na androgene

Metformin smanjuje nivo testosterona oko 20 do 25% kod žena sa PCOS<sup>[110]</sup>. Smatra se da efekat metformina na redukciju nivoa testosterona nastaje zbog smanjenja hiperinsulinemije<sup>[107]</sup>. Međutim, studije sugerisu i druge potencijalne mehanizme za smanjenje nivoa testosterona u PCOS-u. Metformin smanjuje nivo testosterona u PCOS-u u prvih 48 h od početka terapije, prije bilo kakvih značajnih promjena u insulinskoj osjetljivosti ili drugim metaboličkim varijablama<sup>[108]</sup>. Štaviše, u skorašnjoj studiji metformin je smanjio nivo testosterona kod žena sa PCOS uprkos odsustvu bilo kakvog poboljšanja insulinske senzitivnosti, određivano sa IVGTT<sup>[111]</sup>. *In vitro* studije na kulturama tekaćelija jajnika podržavaju direktni inhibitorni efekat metformina na ovarijalnu steroidogenezu putem inhibicije mitohondrijalnog kompleksa I, mehanizma koji je takođe uključen u dejstvo metformina u jetri i drugim tkivima<sup>[107]</sup>. Uprkos efektu na smanjenje testosterona upotreba metformina u PCOS-u nije konzistentno vezana sa poboljšanje menstrualne regularnosti i kliničkog hiperandrogenizma<sup>[112]</sup>.

#### 1.5.1.2.2. Efekat metformina na indukciju ovulacije i fertilitet

Većina ranih studija sa metforminom pokazali su povoljne efekte metformina, samog ili u kombinaciji sa klomifenom na uspostavljanje menstrualne cikličnosti i ovulacije u poređenju sa placebom. Naredne, veće, randomizovane studije dale su oprečne rezultate, i nisu potvrđile ove rane pozitivne efekte<sup>[113]</sup>. Finska multicentrična randomizovana studija visokog kvaliteta na pacijenticama liječenim metforminom pokazala je veću stopu živorodenih u poređenju sa placebom<sup>[114]</sup>. Kada je ova studija uključena u metaanalizu *Cochrane* baze takođe je pokazan efekat metformina na stopu živorodenih u odnosu na placebo, mada je kvalitet dokaza bio nizak. Na osnovu dostupnih dokaza, nije potvrđena superiornost metformina niti klomifen citrata u stopi živorodenih, mada je nađena veća stopa ovulacija i ostvarenih trudnoća na terapiji klomifen citratom. Međutim, rezultati su se razlikovali zavisno od ITM, tako da je moguće da ITM može uticati na izbor tretmana sa najvećim učinkom<sup>[113]</sup>.

### 1.5.1.3. Uticaj metformina na metaboličke odlike PCOS-a

#### 1.5.1.3.1. Insulinska osjetljivost i hiperinsulinemija

Terapija metforminom tokom 6-12 mjeseci kod žena sa PCOS je dovela do poboljšanja insulinom posredovanog unosa glukoze (engl. *insulin-mediated glucose disposal*, IMGD) mjereno tehnikom hiperinsulinemijskog-euglikemijskog klampa<sup>[114]</sup>. Na bazi ovih studija, metformin se smatra insulinskim senzitajzerom. Metformin primarno djeluje na smanjenje produkcije glukoze u jetri i poboljšanje insulinske senzitivnosti u jetri i perifernim tkivima što vodi smanjenju cirkulišućeg insulina<sup>[105]</sup>.

Velika metaanaliza 38 studija žena sa PCOS pokazala je da metformin smanjuje nivo insulina našte, ali sa velikim stepenom heterogenosti. Podanaliza bazirana na ITM pokazala je smanjenje insulina našte samo kod negojaznih žena sa PCOS<sup>[113]</sup>. Metaanaliza randomizovanih kontrolisanih studija poređenja metformina i promjene životnog stila u odnosu na samostalnu promjenu životnog stila nije pokazala značajna poboljšanja nivoa insulina našte i nakon 2h opterećenja glukozom na terapiji metforminom<sup>[115]</sup>. Prema tome, klinički značaj upotrebe metformina u poboljšanju insulinske senzitivnosti u PCOS za sada nije jasan.

Terapija metforminom može usporiti nastanak dijabetesa tipa 2 u PCOS, ali ne postoje prospektivne studije dužeg trajanja u populaciji žena sa PCOS. Važeće smjernice preporučuju terapiju metforminom kod žena sa PCOS sa oštećenom glukoznom tolerancijom kod kojih promjena životnog stila nije dala rezultate<sup>[78]</sup>.

#### 1.5.1.3.2. Uticaj na tjelesnu težinu i tjelesni sastav

Gubitak na težini samo na terapiji metforminom je limitiran<sup>[116,117]</sup>. Kombinacija metformina sa intervencijama usmjerenim na promjenu životnog stila je superiorna u odnosu na oba tretmana pojedinačno u pogledu gubitka na tjelesnoj težini<sup>[117]</sup>. Mali broj studija je ispitivao efekat meformina na omjer visceralne masti i subkutanih masnih depoa. U nekim studijama pokazano je da su efekti metformina na tjelesni sastav nezavisni od ITM, ali su potrebne studije dužeg trajanja da bi se procijenio uticaj terapije metforminom na tjelesni sastav pacijentica sa normalnom težinom<sup>[116]</sup>.

Nekoliko studija ispitivalo je uticaj metformina na nivo adiponektina u plazmi u populaciji žena sa PCOS. U nekim od njih, terapija metforminom u uobičajenim niskim dnevnim dozama dovela je do porasta nivoa adiponektina<sup>[118,119]</sup>. Zaključeno je da metformin, kao i drugi insulin-senzitajzeri, moguće, ispoljavaju povoljne metaboličke efekte prekidajući začarani krug IR i hipoadiponektinemije. U drugim studijama efekat metformina je bio neutralan<sup>[120]</sup>. Gubitak na težini od 10% je bio potreban da bi se postigao značajan porast adiponektina, što upućuje da bi porast insulinske senzitivnosti bio važniji mehanizam za porast koncentracije adiponektina od malih promjena u tjelesnom sastavu.

#### 1.5.1.4. Efekat metformina na kardiovaskularne faktore rizika u PCOS-u

Pokazan je povoljan efekat metformina na kardiovaskularne faktore rizika u PCOS-u<sup>[105]</sup>. Nedavna metaanaliza koja je ispitivala efekte metformina u PCOS-u pokazala je efekte metformina na redukciju ITM, odnosa struk-kuk (eng. *waist-to-hip ratio*, WHR), povoljan uticaj na vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska i nivo triglicerida, ali ne i ukupni, LDL i HDLholesterol<sup>[121]</sup>. Studija koja je poredila efekte oralnih kontraceptiva u odnosu na kombinaciju malih doza pioglitazona, flutamida i metformina kod adolescentkinja normalne tjelesne mase sa viškom androgena pokazala je da je u grupi liječenoj insulinskim senzitajzerima tokom šestomjesečnog tretmana došlo do smanjenja glukozom indukovane insulinemije, nivoa CRP i smanjenja debljine intima-media kompleksa<sup>[122]</sup>.

PCOS karakteriše prisustvo hronične inflamacije niskog stepena, koja igra ulogu u patogenezi PCOS-a i može prethoditi razvoju insulinske rezistencije i metaboličkih rizika<sup>[57]</sup>. Pokazano je da metformin ima direktno antinflamatorno dejstvo djelujući na inhibiciju nuklearnog faktora (eng. *nuclear factor kB*) putem direktnog i indirektnog puta adenozin monofosfat aktivirane protein kinaze<sup>[123]</sup>. Osim toga metformin poboljšava završne produktne uznapredovale glikozilacije (eng. *advanced glycation end products*, AGEs)<sup>[105]</sup>.

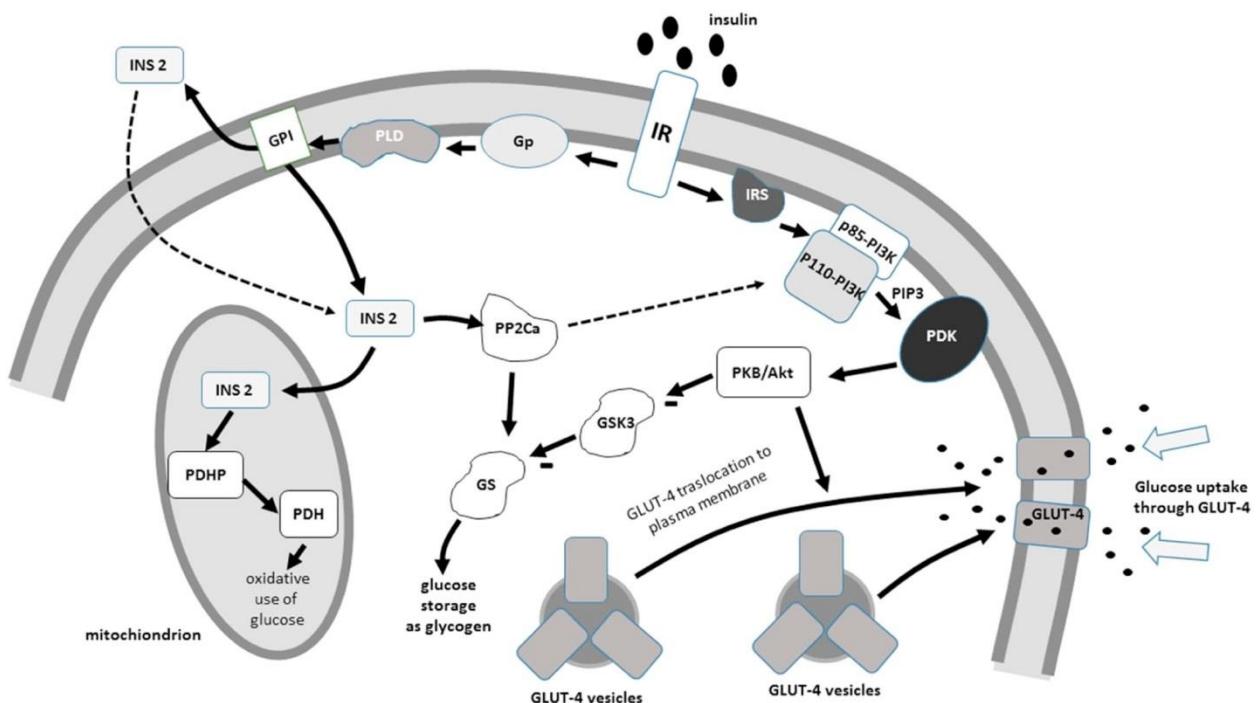
## 1.5.2 Mioinozitol u terapiji PCOS

### 1.5.2.1. Fiziologija inozitola

Inozitoli su grupa prirodnih poliola koji sadrže hidroksi grupe na prstenu cikloheksana, i pripadaju grupi organskih supstanci poznatih kao cikloheksanoli. Inozitoli, kao komponente fosfolipida ćelijske membrane, lipoproteina plazme i fosfatnih jedinjenja u jedru su uključeni u brojne ćelijske procese, kao što je signalna transdukcija, osmoregulacija i regulacija jonskih kanala<sup>[124]</sup>. Zavisno od pozicije hidroksi grupe postoji devet stereoizomera inozitola od kojih se pet javlja u prirodi, dok su ostali derivati mioinozitola, koji se aktivno sintetiše u ćelijama.

Mioinozitol (MI) je široko rasprostranjena forma inozitola u prirodi i ljudskom organizmu. Prvi korak u sintezi mioinozitola je fosforilacija glukoze u glukoza-6-fosfat pomoću glukokinaze. Glukoza-6-fosfat se pomoću enzima mio-inozitol-1L-fosfat sintaze pretvara u 1L-mioinozitol-1-fosfat, koji defosforilacijom pomoću enzima inozitol-monofosfataze oslobađa slobodni mioinozitol. Sinteza se uglavnom odvija u bubrežima. MI se može pretvarati u D-hiroinozitol (DHI) pomoću specifične NAD/NADH-zavisne epimeraze, čije dejstvo je jednosmjerno i stimulisano insulinom<sup>[125]</sup>. Endogena produkcija oba stereoizomera varira zavisno od potreba ciljnih tkiva, pa tako kod zdravih žena odnos MI i DHI u plazmi je 40:1, a u folikularnoj tečnosti jajnika odnos je blizu 100:1<sup>[126]</sup>.

Inozitoli učestvuju u različitim procesima posredovanim insulinom kao sekundarni glasnici. MI se pretvara u inozitolfosfoglikan (IPG), sekundarni glasnik insulina (MI-IPG) koji je uključen u proces preuzimanja glukoze, dok se DHI pretvara u IPG sekundarni glasnik DHI-IPG uključen u sintezu glukagona (Slika 6)<sup>[127]</sup>. U jajnicima MI-IPG učestvuje u prenosu FSH signala, dok DCI-IPG učestvuje u insulin posredovanoj produkciji androgena. Poremećaji insulinskog signalnog puta mogu nastati zbog defekta puta inozitolfosfoglikanskih (IPG) sekundarnih prenosioca (mesindžera) u skladu s njihovom ulogom u aktivaciji enzima koji kontrolišu metabolizam glukoze. IPG su direktno uključeni u aktivaciju metabolizma glukoze, tako da, čini se, žene sa PCOS imaju defekt u tkivnoj dostupnosti ili poremećenom metabolizmu inozitola u IPG medijatore, što može dovesti do insulinske rezistencije<sup>[128]</sup>.



Slika 6. Shematski prikaz signalnih puteva insulina- Inositol glikani kao putativni sekundarni glasnici insulina (INS-2). (modifikovano iz Croze i Soulage; 2013)<sup>[127]</sup>

#### 1.5.2.2. Uloga inozitola u terapiji reproduktivnih odlika PCOS

Klinički podaci su pokazali da MI i DHI, kao insulinski senzitajzeri povoljno utiču na metaboličke i reproduktivne aspekte PCOS<sup>[129]</sup>. Fiziološki odnos MI I DHI, kao i relativna količina svakog stereoisomera su tkivno specifični parametri koji odražavaju različite fiziološke uloge inozitola. U malim dozama DHI poboljšava insulinsku senzitivnost u ciljnim tkivima i smanjuje cirkulišуci nivo insulina i androgena, što povoljno utiče na funkciju jajnika i broj ovulacija<sup>[130]</sup>. Efekti MI na metabolizam insulina su uglavnom na nivou jajnika, gdje se nalazi u visokim koncentracijama i direktno utiče na funkcije jajnika, uključujući steroidogenezu<sup>[131]</sup>.

U zdravim jajnicima ovi procesi su u ravnoteži, što omogućava održavanje normalnih hormonskih nivoa i funkcije jajnika. U PCOS-u sistemska insulinska rezistencija i posljedična hiperinsulinemija pojačava aktivnost epimeraze, što povećava odnos DHI prema MI. Ovo potiče hiperandrogenizam i smanjuje efikasnost MI u prenosu FSH signala<sup>[125]</sup>.

#### 1.5.2.2.1. Efekti inozitola na hiperandrogenizam

Smanjenje nivoa slobodnog testosterona zapaža se nakon primjene MI<sup>[132]</sup> i DHI<sup>[133]</sup>. Skorašnja metaanaliza devet randomizovanih kliničkih studija koja je evaluirala efikasnost terapije sa MI, samog ili u kombinaciji sa DHI (40:1 odnos MI:DHI) tokom 12–24 nedelje, pokazala je lagani trend ka sniženju testosterona u odnosu na kontrole, dok su vrijednosti androstenediona ostale nepromjenjene<sup>[134]</sup>. Povećana koncentracija androgena kod žena sa PCOS i hiperinsulinemijom može nastati zbog povećane aktivnosti epimeraze u insulin-senzitivnim tekaćelijama jajnika i smanjenog odnosa MI/DHI u tkivima, što uzrokuje perifernu insulinsku rezistenciju<sup>[135]</sup>. Pokazano je da DHI smanjuje ekspresiju gena za aromatazu na dozno zavisan način<sup>[136]</sup>. Aromataza je enzim koji pretvara androgene u estrogene, tako da inhibicija ovog enzima dovodi do povećanja nivoa testosterona i drugih androgena. Ova opažanja dovode do zaključka da višak DHI u jajnicima stimuliše produkciju androgena.

#### 1.5.2.2.2. Efekti inozitola na anovulaciju i infertilitet

PCOS kao endokrini poremećaj je glavni uzrok infertilitea i izostanka ovulacije kod žena reproduktivne dobi. Značajna je uloga primjene MI u povećanju stope uspješnosti asistiranih tehnika reprodukcije<sup>[137]</sup>. Smatra se da višak MI u jajnicima dovodi do porasta senzitivnosti na FSH, stope fertilizacije i kvaliteta embriona<sup>[137]</sup>. Podaci potiču iz studija koje su koristile MI i folnu kiselinu kod žena sa infertilitetom tokom dva do tri mjeseca<sup>[138]</sup>. Ova terapija dovila je do povećanja stope oplođenih jajnih ćelija/trudnoća za oko 15% i boljeg kvaliteta embriona. Nije bilo značajnih neželjenih efekata, čak i sa dozama od 4000 mg MI dnevno. Prema tome, terapija sa MI može dovesti do uspostavljanja spontanih ovulacija i menstrualne cikličnosti, i posljedično fertiliteta kod mnogih žena sa PCOS. S druge strane, samostalna primjena DHI u visokim dozama smanjuje kvalitet oocita i odgovor jajnika<sup>[139]</sup>. Moguće objašnjenje za ovaj fenomen je tkivno specifična priroda insulinke rezistencije kod žena sa PCOS. Iako postoji insulinška rezistencija na nivou mišića i jetre kod žena sa PCOS, senzitivnost na nivou jajnika je očuvana, što odražava tkivno specifičnu insulinšku rezistenciju kod žena sa PCOS. Hiperinsulinemija stimuliše aktivnost epimeraze koja pretvara MI u DHI u jajnicima što dovodi do prekomjerne produkcije DHI i posljedičnog nedostatka MI. Nedostatak MI u jajnicima dovodi do smanjenog prenosa FSH signala i slabijeg kvaliteta

oocita u PCOS-u. Ovo je poznato kao "DHI paradoks" u jajniku, koji su predložili *Carlomagno* i saradnici<sup>[140]</sup>.

Najbolji rezultati su dobijeni istovremenom primjenom MI i DHI<sup>[141]</sup>. Terapija koja podrazumijeva korištenje obe komponente, u odnosu 40:1, uspostavlja funkciju jajnika i popravlja metabolički profil žena sa PCOS<sup>[141]</sup>. U studiji na animalnim modelima PCOS, rađenoj na miševima, terapija sa MI i DHI u odnosu 40:1, dovela je do potpunog oporavka histološkog izgleda jajnika, kao i odnosa debljine teka i granuloza sloja i oporavka fertiliteta<sup>[142]</sup>. Efekti DHI na smanjenje periferne insulinske rezistencije i uloga MI u poboljšanju ovarijalne funkcije razlog su specifičnog dejstva kombinovanog tretmana.

### 1.5.2.3. Efekti inozitola na metaboličke parametre

#### 1.5.2.3.1. Efekti MI na insulinsku senzitivnost

Zbog svog uticaja na insulinsku osjetljivost, inozitoli pozitivno utiču na metaboličke parametre kod žena sa PCOS. Smanjena dostupnost ili poremećen metabolizam inozitola ili IPG-a, posebno puta IPG sekundarnih insulinskih prenosioča, može dovesti do IR<sup>[125]</sup>.

Pokazano je poboljšanje hormonskog miljea i insulinske rezistencije kod žena sa PCOS na terapiji MI<sup>[132]</sup>. Pozitivni efekti primjene mioinozitola podržavaju hipotezu da smanjenje insulinemije indukovano mioinozitolom nastaje zbog veće bioraspoloživosti IPG sekundarnih insulinskih mesindžera. Nađeno je značajno poboljšanje menstrualne regularnosti i glukoinsulinemijskog metabolizma izražene putem odnosa glukoza/insulin i HOMA indeksa, dok nisu nađene promjene cirkulišućeg nivoa androgena<sup>[132]</sup>.

Studija koja je ispitivala efekat različitih formulacija MI i DHI je pokazala da je odnos MI:DHI od 40:1 pokazao najbolje efekte terapije na uspostavljanje ovulacije i normalizaciju parametara kao što su progesteron, LH, SHBG, estradiol i testosteron kod pacijenata sa PCOS<sup>[143]</sup>. Primjena DHI takođe je smanjila insulinski odgovor na oralno primjenjenu glukozu kod gojaznih žena sa PCOS<sup>[144]</sup>.

#### 1.5.2.3.2. Efekti MI na kardiovaskularne faktore rizika

Suplementacija sa MI dovodi do poboljšanja lipidnog profila sa smanjenjem triglicerida, ukupnog i LDL holesterola te povećanja HDL holesterola, što dovodi do redukcije kardiovaskularnog rizika povezanog sa insulinskom rezistencijom<sup>[145]</sup>. Smanjenje insulinske rezistencije dovodi do poboljšanja lipidnog profila. Inozitoli mogu uticati na poboljšanje insulinskog profila smanjenjem udjela visceralne masti, akumulacije lipida u jetri i insulinske sekrecije, kao i povećanjem koncentracije adiponektina<sup>[145]</sup>.

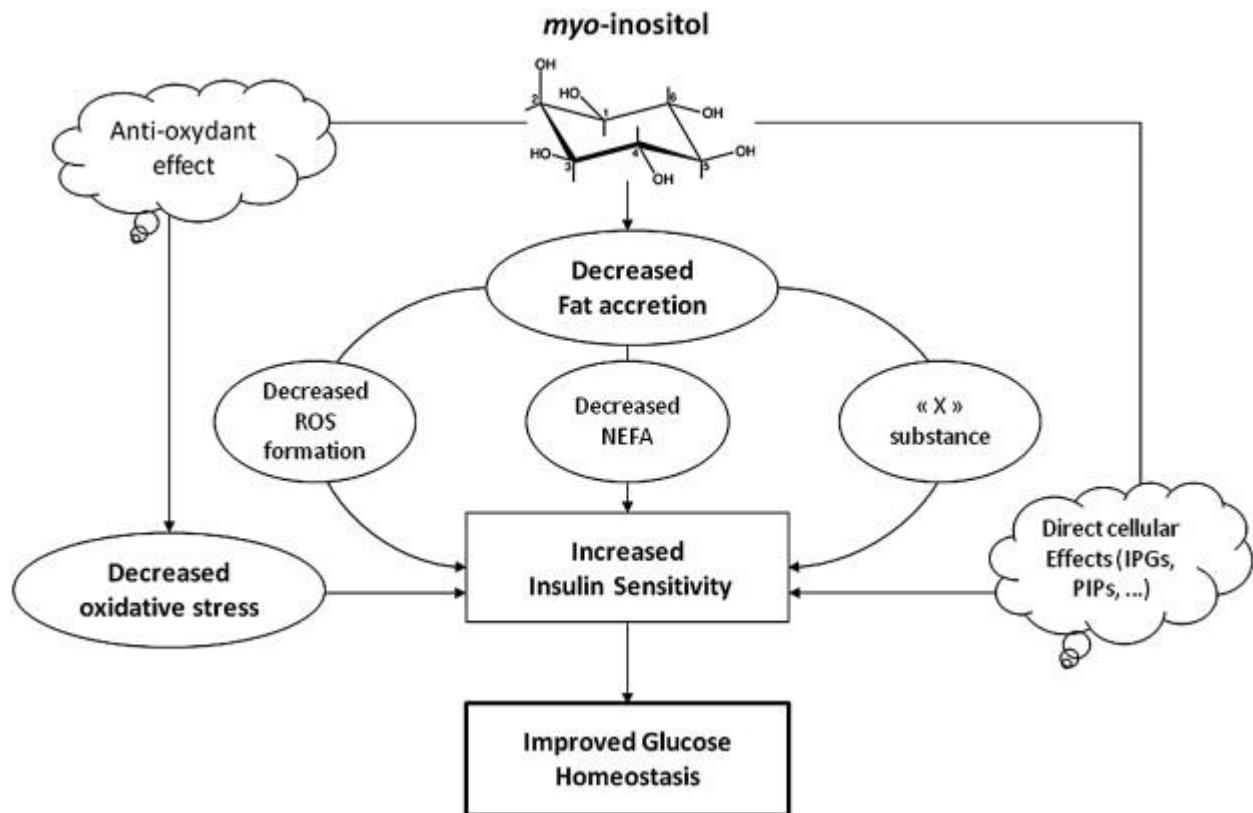
Primjena DHI dovodi do poboljšanja insulinske rezistencije, krvnog pritiska i koncentracije triglicerida u plazmi<sup>[133]</sup>. Efekat inozitola na lipidni profil žena sa PCOS ispitivan je u brojnim studijama<sup>[131,145,146]</sup>. U studiji *Gerli* i saradnika MI je doveo do povećanja koncentracije HDL, izuzev u ekstremno gojaznih žena sa  $ITM > 37$ <sup>[145]</sup>. U drugim studijama terapija sa MI dovela je do sniženja ukupnog holesterola i triglicerida u plazmi<sup>[146]</sup>.

#### 1.5.2.3.3. Efekat MI na tjelesnu težinu i tjelesni sastav

U više studija je pokazan efekat mioinozitola na smanjenje tjelesne težine<sup>[131,143]</sup>. U drugim studijama došlo je do nesignifikantnog smanjenja ITM, uz poboljšanje ostalih metaboličkih parametara<sup>[132]</sup>. Neki od pozitivnih efekata MI su izostali kod ekstremno gojaznih žena ( $ITM > 37 \text{ kg/m}^2$ ), dok su druge studije pokazale da je terapija sa MI efikasnija kod gojaznih žena sa visokim vrijednostima baznog insulinu<sup>[132,145]</sup>.

Povećanje intraabdominalnog masnog tkiva dovodi do povećanja rizika kardiovaskularne bolesti i dijabetesa tipa 2. U animalnim studijama efekat mioinozitola na insulinsku senzitivnost bio je udružen sa smanjenjem gomilanja masnog tkiva i postojala je dobra korelacija između insulinske senzitivnosti i količine bijelog masnog tkiva<sup>[147]</sup>. Smanjenje masnog tkiva je važna strategija u poboljšanju insulinske senzitivnosti i prevencije metaboličkih bolesti. Primjena MI kod menopauzalnih žena sa metaboličkim sindromom dovela je do redukcije ITM i obima struka (OS), što potvrđuje efekat na redukciju masnog tkiva<sup>[148]</sup>. Uticaj MI na smanjenje tjelesne mase kod žena sa PCOS je povezan za smanjenjem koncentracije leptina u plazmi<sup>[145]</sup>. Mogući medijator povoljnih efekata MI na insulinsku senzitivnost bi mogao biti uticaj MI na koncentraciju adiponektina. Adiponektin je važan faktor za povećanje insulinske osjetljivosti. U animalnim studijama suplementacija MI dovela je do smanjenja ekspanzije masnog tkiva, što može biti uzrok porasta nivoa adiponektina<sup>[147]</sup>.

U humanim studijama primjena MI kod žena sa gestacijskim dijabetesom je dovela do značajnog povećanja nivoa adiponektina<sup>[149]</sup>.



Slika 7. Predloženi mehanizam efekta terapije MI na insuinsku senzitivnost kod miševa. Skraćenice: IPG, inositolphosphoglycans; NEFA, nonesterified fatty acids; PIPs, phosphorylated inositol-phospholipids (phosphoinositides); ROS, reactive oxygen species. Prilagođeno iz Croze i sar.; 2013<sup>[150]</sup>.

Pošto se smatra da gojaznost značajno utiče na perifernu insulinsku rezistenciju, redukcija masnog tkiva na terapiji sa MI može biti glavni faktor u poboljšanju insulinske senzitivnosti zbog promjena u sekreciji adipokina i proinflamatornih citokina, redukcije produkcije ROS (eng. *reactive oxygen species*), smanjenja koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina u plazmi (eng. *non NEFA*), a moguće je i direktno antioksidativno dejstvo MI na poboljšanje insulinske senzitivnosti putem indukcije antioksidativnih enzima (Slika 7)<sup>[150]</sup>.

U većini studija mioinozitol je korišten u kombinaciji sa folnom kiselinom i/ili drugim susptancama, a činjenica je da, *in vivo*, folna kiselina poboljšava glikemijsku kontrolu i insulinsku rezistenciju kod pacijenta sa T2DM<sup>[146]</sup>. Ovakav sinergistički efekat i folne kiseline može doprinijeti kliničkim poboljšanjima uočenim u prethodnim studijama.

Postoje dokazi o povezanosti adiponektina sa insulinskom rezistencijom, insulinskom senzitivnošću, ITM i gojaznošću. Ova povezanost je evidentna kod žena sa PCOS, sa izuzetkom da nivo adiponektina može biti nizak kod ovih žena i u odsustvu gojaznosti. Mehanizmi regulacije, važnost i uloga ovog proteina u zdravlju i bolesti tek treba da se utvrde. Nije do kraja jasno da li je adiponektin jedan marker koji ima direktni efekt ili postoje brojni putevi, da li je intermedijarni marker, medijator ili direktno uključen u mehanizam bolesti. Adiponektin, kao biomarker za PCOS ima potencijal, ali su potrebna prospektivna, longitudinalna ispitivanja da bi se utvrdile uzročne veze.

S obzirom na nekonzistentne rezultate studija o različitim tretmanima usmjerenim na smanjenje IR na nivo adiponektina, postavlja se pitanje da li odgovor na farmakološki tretman ovisi o fenotipu PCOS i da li nivo adiponektina u plazmi može služiti kao koristan prognostički faktor za odgovor na terapiju metforminom ili drugim agensima koji djeluju na smanjenje IR.

Takođe, efekat insulin-senzitajzera na smanjenje nivoa adiponektina u konačnici može dovesti do smanjenja incidence dijabetesa tipa 2 i drugih metaboličkih bolesti kod žena sa PCOS u kasnjem životu, o čemu su potrebna dalja istraživanja. Nove studije sa dužim trajanjem i većom populacijom su potrebne da bi se preporučila primjena ovih agensa u redukciji kardiovaskularnog i metaboličkog rizika kod žena sa PCOS.

Trenutno ne postoje nacionalne smjerice za upotrebu mioinozitola kod žena reproduktivne dobi. Bolje razumijevanje efekata mioinozitola na hormonski i metabolički profil i smanjenje kardiovaskularnog rizika pacijentica sa PCOS značajno bi doprinijeli boljem shvatanju uloge mioinozitola u terapiji pacijentica sa PCOS u poređenju sa terapijom metforminom.

## **2. RADNE HIPOTEZE**

IR udružena sa PCOS je uključena u nishodnu regulaciju adiponektina, te lijekovi koji povećavaju insulinsku senzitivnost mogu ponovo uspostaviti normalan nivo adiponektina.

Terapijska upotreba metformina i mioinozitola dovodi do normalizacije vrijednosti insulina, hsCRP, indeksa insulinske rezistencije, lipidnog profila i vrijednosti krvnog pritiska.

Terapijska upotreba metformina i mioinozitola dovodi do smanjenja kliničkog i biohemijskog hiperandrogenizma i normalizacije hormona reproduktivne osovine.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Ciljevi ovog istraživanja su bili:

1. Uporediti koncentraciju adiponektina između subgrupa mršavih i prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS i mršavih i prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena kontrolne grupe.
2. Utvrditi korelaciju adiponektina sa indeksom tjelesne mase (ITM), obimom struka (OS), markerima insulinske rezistencije (HOMA-IR, QUICKI), markerom sistema inflamacije hsCRP, lipidnim statusom (ukupni holesterol, HDL, LDL, trigliceridi, oxLDL) i androgenima (ukupni testosteron, SHBG, DHEAS, FAI).
3. Utvrditi uticaj terapije metforminom i mioinozitolom u grupi pacijentica sa PCOS na:
  - serumski nivo adiponektina;
  - BMI, OS, krvni pritisak i *Ferriman–Gallwey* skor;
  - metaboličke parametre: insulin, markere insulinske rezistencije, marker sistema inflamacije i lipidogram;
  - hormonski profil: nivo serumskih androgena, LH, FSH, fT4 i TSH.

## **4. ISPITANICI I METODE**

### **4.1. Ispitanice**

Istraživanje je provedeno kao prospektivna, interventna klinička studija u Univerzitetskom Kliničkom centru Republike Srpske Banja Luka od januara 2017. do septembra 2018 godine.

Studijsku grupu (Grupa 1) je činilo 60 žena reproduktivne dobi, starosti od 17 do 40 godina, kod kojih smo postavili dijagnozu PCOS-a prema Rotterdamskim kriterijima: 30 mršavih sa  $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$  i 30 prekomjerno uhranjenih/gojaznih sa  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$ .

Kontrolnu grupu (Grupa 2) je činilo 60 zdravih žena reproduktivne dobi, starosti od 17 do 40 godina, sa normalnim menstrualnim ciklusima, mečovane po starosti i tjelesnoj masi sa studijskom grupom: 30 mršavih sa  $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$  i 30 prekomjerno uhranjenih/gojaznih sa  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$ .

Dijagnoza PCOS je ustanovljena na osnovu Rotterdamskih kriterija Evropskog udruženja za humanu reprodukciju i ginekološku endokrinologiju/Američkog udruženja za reproduktivnu medicinu (ESHRE/ASRM - *European Society of Human Reproduction and Endocrinology / American Society of Reproductive Medicine*) iz 2003. godine. Prema Rotterdamskim kriterijima dijagnoza PCOS-a postavlja se na temelju prisutnosti dva od tri sljedeća simptoma: (I) oligo/anovulacije; (II) kliničkih i/ili biohemijskih znakova hiperandrogenizma; (III) policističnih jajnika na ultrazvučnom pregledu<sup>[3]</sup>.

Poremećaji menstrualnog ciklusa su definisani kao prisutnost amenoreje ili oligomenoreje, kao više od šest ciklusa sa trajanjem  $> 35$  dana ili izostanak tri menstrualna ciklusa u nizu tokom protekle godine.

Hiperandrogenizam je procjenjivan na osnovu kliničkih znakova hirzutizma i/ili na temelju povišenih vrijednosti androgena, definisano kao ukupni testosteron  $> 2,0 \text{ nmol/L}$  ( $> 0,57 \text{ ng/mL}$ ) i/ili or FAI  $\geq 6$ <sup>[88]</sup>. Hirzutizam smo definisali Ferriman-Gallwey-ovim indeksom većim od 8, prisustvom akni u trećoj dekadi života ili androgene alopecije.

Druge bolesti koje imitiraju PCOS (Kušingov sindrom, kongenitalna adrenalna hiperplazija, androgen-sekretujući tumori, hiperprolaktinemija, poremećaj funkcije štitaste žlijezde) isključene su mjeranjem serumskih bazalnih vrijednosti 17-hidroksiprogesterona (17-OHP), kortizola, prolaktina (PRL) i hormona koji stimuliše štitastu žlijezdu (TSH). Sve

učesnice ovog istraživanja su bile na režimu normalne ishrane i unosa tečnosti, i bez suplementacije vitaminima.

U kontrolnu grupu su uključene žene koje su u obradi radi planiranoga postupka vantjelesne oplodnje zbog muške neplodnosti. U ovu grupu su uključene žene koje nisu imale poremećaj ciklusa, bez kliničkih ili biohemijskih znakova hiperandrogenizma i bez ultrazvučnog nalaza policističnih jajnika. Nijedna ispitanica u kontrolnoj grupi nije imala endokrinološki poremećaj kao ni ginekološke operacije u anamnezi.

Pacijenti sa sistemskim bolestima (dijabetes melitus, nekontrolisana bolest štitaste žlijezde, kardiovaskularne bolesti, hronična bubrežna slabost i malignitet) nisu uključivani u studiju. Učesnici u istraživanju nisu koristili oralne kontraceptive, lijekove za stimulaciju ovulacije, smanjenje insulinske rezistencije, hipolipemike, kao ni druge lijekove koji utiču na metabolizam lipida i ugljikohidrata posljednja tri mjeseca prije početka istraživanja.

Prije uključenja u istraživanje svi ispitanici su potpisali informisani pristanak. Istraživanje je provedeno u skladu sa principima Helsinške deklaracije, odobreno od strane Etičkog komiteta Univerzitetsko kliničkog centra Republike Srpske.

U drugom dijelu istraživanja provedeno je ispitivanje po tipu prospektivne, otvorene, randomizovane komparativne studije u kojoj su pacijentice sa PCOS podijeljene u dvije jednakе grupe pomoću kompjuterski dobijenih slučajnih brojeva. Prva grupa, (n=30) je liječena metforminom u dozi od 1500 mg/dan, a druga grupa (n=30) mioinozitolom 2x2 g plus folna kiselina 200 mg svaki dan tokom 6 mjeseci. Nakon tri mjeseca verifikovana je komplijansa i neželjeni efekti lijeka.

Klinička, biohemijska i hormonska procjena je rađena na početku i nakon 6 mjeseci tretmana kliničkim, laboratorijskim i ultrazvučnim pregledom.

#### **4.1.1 Anamnestički podaci**

Anamnestički su kod svih pacijenata prikupljeni sljedeći podaci: starost, pol, upotreba lijekova, anamneza redovnosti menstrualnih ciklusa u skladu sa vremenskim intervalom od 21-35 dana u posljednjih godinu dana.

U fizikalnom pregledu klinički hiperandrogenizam je procjenjen na osnovu prisustva hirzutizma koristeći *Ferriman-Galway* scoring sistem, prisustva akni ili alopecije.

#### **4.1.2. Antropometrijski podaci**

Antropometrijski podaci o ispitanicama su obuhvatili tjelesnu visinu (TV), tjelesnu masu (TM), obim struka (OS), koji su određivani prema važećim preporukama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO).

Tjelesna visina je mjerena u stojećem stavu pacijenata bez obuće koristeći visinomjer, sa preciznošću mjerjenja od 1 mm.

Tjelesna masa je mjerena kalibrisanom vagom kod lagano obučenih pacijenata bez obuće, sa preciznošću mjerjenja od 100 grama.

Obim struka (OS) je mjerен mekom, neelastičnom mjernom trakom u stojećem položaju, na sredini rastojanja između donje ivice 12-og rebra i najviše tačke kriste ilijake u srednjoj aksilarnoj liniji na kraju normalnog izdisaja.

Indeks tjelesne mase (ITM) je izračunat pomoću formule:  $ITM = \frac{\text{tjelesna masa (kg)}}{\text{visina (m}^2\text{)}}$ . Gojaznost je definisana kao  $ITM \geq 30 \text{ kg/m}^2$ , a visceralna gojaznost kao  $OS > 88 \text{ cm}$ .

Za analizu sastava tijela upotrijebljena je metoda bioelektrične impedancije kojom su se pratili parametri sastava tijela i dobili podaci o tjelesnoj masi (TM), indeksu tjelesne mase, masi masnog tkiva izraženoj u kilogramima, postotku masne mase, mišićnoj masi izraženoj u kilogramima, masi nemasnog tkiva izraženoj u kilogramima i odnosu struk-kuk (eng. *waist-hip ratio*; WHR). Upotrijebljen je profesionalni analizator sastava tjelesne mase: InBody 370 (Biospace Co., Ltd. Korea). InBody 370 koristi osam tačaka taktilne elektrode u kontaktu sa tačkama na šakama i stopalima za određivanje tjelesne vode po segmentima, koje varira zavisno od sastava tijela. Koristi više frekvencija da odvojeno mjeri intračelijsku i ekstračelijsku vodu i mjeri razliku voltaže između gornjeg i donjeg dijela tijela, da bi izračunao razlike u sastavu tijela. Koeficijent varijacije varira od 0,2% do 1,9%<sup>[151]</sup>.

#### **4.1.3. Podaci o kliničkim karakteristikama**

U fizičkom pregledu klinički hiperandrogenizam je procjenjen na osnovu prisustva hirzutizma koristeći modifikovani F-G skor sistem (eng. *Ferriman–Gallwey score*)<sup>[152]</sup>, prisustva akni na licu i leđima ili alopecije.

Krvni pritisak je mjerен metodom auskultacije pomoću živinog manometra u sjedećem položaju, sa manžetom u visini srca u dva odvojena mjerjenja u razmaku od 10 minuta. Srednja vrijednost oba mjerena sistolnog (SKP) i dijastolnog krvnog pritiska (DKP) je uzeta sa preciznošću od 1 mmHg.

## 4.2. Biohemijski parametri

### 4.2.1. Priprema seruma

Za određivanje različitih biohemijskih parametara i hormona uzimana je periferna krv u epruvete venepunkcijom iz vene u lakatnom pregibu. Krv je uzimana u jutarnjim časovima (od 08:00 do 9:00) na prazan stomak, posle najmanje 12 sati gladovanja. Nakon uzimanja krv je ostavljena u vodenom kupatilu 20 minuta. Serum je odvojen centrifugiranjem na 3000 obrtaja/min. u trajanju od 15 minuta, na temperaturi od +4 °C. Dobijeni uzorci seruma zamrznuti su na -80 °C, i tako čuvani do trenutka ispitivanja.

### 4.2.2. Određivanje biohemijskih parametara

Koristeći standardne procedure urađena su sljedeća laboratorijska mjerena:

- Vrijednost glikemije u serumu određena je enzimskom metodom glukozo-oksidaze korišćenjem originalnih *Roche* reagenasa na automatskom analizatoru *Hitachi 6000 Cobas c501® (Roche)* i izražena u mmol/L. Iz uzorka venske krvi meren je nivo glikemije našte (G 0'), a zatim tokom testa oralnog opterećenja glukozom (OGTT) u 30-om, 60-om, 90-om i 120-om minutu (G 30'; G 60'; G 90'; G 120').
- Koncentracija holesterola u serumu, HDL holesterola i triglicerida u serumu određena je kolorimetrijskim metodama, prema uputstvu proivođača korišćenjem originalnih *Roche* reagenasa na automatskom analizatoru *Hitachi 6000 Cobas c501® (Roche)*. Koncentracija LDL holesterola u serumu izračunata je uz pomoć Friedwald-ove formule (za triglyceride manje od 2,2 mmol/L):  $LDL \text{ (mmol/L)} = \text{holesterol} - (\text{Tg} : 2,2 + \text{HDL})^{[153]}$ . Dobijene vrijednosti izražene su u mmol/L.
- Oksidovani LDL (ox-LDL) je rađen ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) metodom, reagens ox-LDL/MDA, REF K7810, (*Immundiagnostik AG, Bensheim*,

*Germany*). Intra- i interesej koeficijenti varijacije su bili 5,7% i 11,8%. To je imunološki test zasnovan na tehnici direktnog sendviča u kojoj su dva monoklonska antitijela usmjereni ka odvojenim antigenim determinantama na oksidovanom apolipoprotein B molekulu. U toku inkubacije oksidovani LDL iz uzorka reaguje sa antioksidovanim LDL antitijelima koja su vezana za mikrotitraciju ploču. Posle ispiranja, kojim se uklanjaju nereaktivne komponente plazme, antihumani apolipoprotein antitijelo konjugovan sa peroksidazom, prepozna oksidovani LDL vezan za čvrstu fazu. Poslije druge inkubacije i još jednog ispiranja i uklanjanja nevezanih enzimom obilježenih antitijela, vezani konjugat se detektuje reakcijom sa 3,3',5,5' tetrametilbenzidinom (TMB). Reakcija se zaustavlja dodavanjem kiseline radi dobijanja kolorimetrijske krajnje tačke, a zatim očitava spektrofotometrijski na 450 nm. Dobijene vrijednosti izražene su u ng/mL.

- Nivo hs-CRP određivan je ultrasenzitivnim imunoturbidimetrijskim testom na aparatu *Integra 400+* (CRP Latex HS; *Roche Diagnostics, Mannheim, Germany*) sa senzitivnošću od 0,03 mg/L i intra- i interesej koeficijentom varijacije od 1,3% i 5,7%, a dobijene vrijednosti su izražene u mg/L.

### 4.3. Određivanje hormona

Kod svih ispitanika određeni su nivoi hormona u intervalu između drugog do petog dana folikularne faze menstrualnog ciklusa, ili bilo kad u slučaju teške oligomenoreje ili amenoreje. Nivoi hormona insulin - našte (I 0'), a zatim tokom testa oralnog opterećenja glukozom (OGTT) u 30-om, 60-om, 90-om i 120-om minutu (I 30'; I 60'; I 90'; I 120'), testosteron, SHBG, DHEA-S i AMH su određeni imunohemijskom metodom elektrohemiluminiscencije (ECLIA) na analizatoru *Cobas e411®* (ECLIA, *Roche Diagnostics, Mannheim, Germany*; inter- i intra-esej koeficijenti varijacije, CV su bili 0,9% i 3,7%, 2,1% i 2,5%, 1,3% i 2,1%, 2,6% i 2,7%, 1,6% i 1,8%, redom). Dobijene vrijednosti izražene su: testosteron u ng/mL, AMH ng/mL, DHEAS u mcg/dL i insulin u mIJ/L sa preciznošću od dvije decimale. FSH, LH i estardiol (E2) su određeni imunohemijskom metodom hemiluminiscencije (CLIA, *Immulite 2000*, *Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany*; inter- i intra-esej, CV 2,9% i 3,9%, 2,9% i 3,8%, 5,6% i 7,1%, redom).

Hormoni TSH, fT4 i kortizol su određeni imunohemijskom metodom hemiluminiscencije (CLIA, *Immulite 2000*, *Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany*). Dobijene vrijednosti izražene su: TSH u mIU/L, fT4 u pmol/L, kortizol u nmol/L, sa preciznošću od dvije decimale. Prolaktin je određen na analizatoru *ARCHITECT ci8200* (*Abbott Diagnostics*) i izražen u mIU/L. Serumski nivo 17-OHP mjerен je radioimunoesej ispitivanjem (*CISBio International, Gif-sur-Yvette, France*) i izražen u ng/ml. Adiponektin je mjerен ELISA metodom pomoću reagensa *Adiponectin Human, EIA 4574* (ELISA, *DRG Diagnostics, Marburg, Germany*; inter- and intra-esej CV 5,9% i 6,3%, redom). Dobijene vrijednosti izražene su u mcg/mL, sa preciznošću od jedne decimale. Osjetljivost, specifičnost, inter-analiza i koeficijenti varijacije unutar testa bili su unutar propisanih granica prema protokolu proizvođača.

Indeks slobodnih androgena (*free androgen index - FAI*) je izračunat iz ukupnog testosterona i SHBG, uz pomoć formule [FAI =Testosteron (nmol/L)x100/SHBG (nmol/L)], a vrijednost > 8 smatrana je povišenom<sup>[154]</sup>.

#### **4.4. Izračunavanje parametara insulinske rezistencije**

Kod svih ispitanika za procjenu insulinske rezistencije koristili su se sljedeći indeksi:

1. homeostatski model insulinske rezistencije HOMA-IR po formuli: insulin našte (mU/l) x GUK našte (mmol/l) / 22,5<sup>[155]</sup>.
2. QUICKI (kvantitativni indeks insulinske osjetljivosti) po formuli: 1 / (log (insulin našte μU/mL) + log(GUK našte mg/dL))<sup>[156]</sup>.
3. AUCglukoze po formuli: 0,5 x (0,5 x G0'+G30'+G60'+G90'+0,5 x G120')<sup>[157]</sup>.
4. AUCinsulina po formuli: 0,5 x (0,5 x I0'+I30'+I60'+I90'+0,5 x I120')<sup>[157]</sup>.

#### **4.5. Ultrazvučni pregled jajnika**

Kod svih ispitanica urađena je transvaginalna ili transabdominalna ultrasonografija u folikularnoj fazi od 3-5 dana menstrualnog ciklusa na početku ispitivanja kao i kontrolni pregled po završetku šestomesečne terapije. Pregled je obavljen na aparatu GE *Logiq7* visokofrekventnom vaginalnom sondom 8 MHz ili abdominalnom sondom 4-7 MHz. Tokom pregleda precizno je urađeno mjerjenje jajnika u tri dimenzije kao i detaljno opisan njihov

morfološki izgled. Konsenzusom u Rotterdamu postavljeni su sljedeći kriteriji za ultrazvučnu dijagnozu policističnih jajnika:

(I) policistični jajnik s 12 ili više folikula 2 – 9 mm u promjeru;

(II) povišeni volumen jajnika  $>10 \text{ cm}^3$ ;

(III) dostatnost ovih nalaza na samo jednom jajniku.

Volumen jajnika se izračunavao prema formuli:  $(0,5 \times \text{dužina} \times \text{širina} \times \text{debljina})$ .

#### **4.6. Statistička obrada podataka**

Dobijeni rezultati su obrađeni i analizirani primjenom deskriptivne statistike za opis podataka i prikazani tabelarno i grafički. Za procjenu normalnosti raspodjele varijabli korišten je *Kolmogorov-Smirnov* test. Za analizu demografskih osobina, karakteristika pacijenata i osobenosti oboljenja korišćene su deskriptivne statističke metode, a njihova distribucija između grupa, kao i značajnost razlike osobenosti između pojedinih grupa je testirana pomoću *Pearson-ovog  $\chi^2$ -testa* sa *Bonferroni-jevom* korekcijom ili *Fisher-ovim* egzaktnim testom, *Wilcoxon-Mann-Whitney* testom, *Kruskal-Wallis* testom, a razlike između aritmetičkih sredina kontinuiranih podataka su testirane *t-testom*, *ANOVA-om* ili ekvivalentom u slučaju odstupanja od normalne raspodjele. Vezani uzorci su kontrolisani *t-testom* za vezane uzorke, u slučaju kontinuiranih obilježja posmatranja, a u suprotnom *Wilcoxon* ili *McNemar* testom. Korelacija različitih varijabli određivana je pomoću *Pearson-ovog* koeficijenta za parametarske varijable ili *Spearman-ovog* koeficijenta za neparametrijske varijable.

Binarna logistička regresiona analiza je urađena da bi se analizirali faktori povezani sa PCOS. Za sve faktore koji su bili značajno povezani sa PCOS urađena je univariantna logistička regresiona analiza. Svi faktori značajno povezani sa PCOS u univariantnoj logističkoj regresionoj analizi su ušli u multivariantnu logističku regresionu analizu. Kako bi se analizirala povezanost antropometrijskih, biohemijskih i hormonskih faktora sa koncentracijom adiponektina kod pacijentkinja sa PCOS izračunate su krive operativnih karakteristika (eng. *receiver operating characteristics*, ROC) za sve faktore koji su bili značajno povezani sa PCOS. Područja ispod krive (eng. *areas under the curves*, AUCs) izračunata su prema trapezoidnoj metodi sa 95% intervalima pouzdanosti (eng. *confidence intervals*, CIs). Značajnost dobijenih *cut-off* vrijednosti povezanih sa koncentracijom

adiponektina testirana je pomoću univarijantne i multivarijantne binarne logističke regresione analize. Za ispitivanje razlike u preterapijskim i postterapijskim vrijednostima pojedinih parametara, u odnosu na terapijsku opciju, je korišćena *Two Way Repeated Measures ANOVA* (TW RMA), multivarijantna analiza varijanse (MANOVA), kao i logistička regresija.

Statistička obrada je rađena pomoću programa SPSS (IBM-SPSS program ver. 21) i Rcmdr (R Commander, V2.6-1, GLP).

Dijagrami i slike su dodatno obrađivane pomoću programa *Adobe Photoshop CC 2015* (*Adobe Systems Incorporated, CA, USA*) i *Excel 2016* (v16.0; *Microsoft corp, CA, USA*).

## **5. REZULTATI**

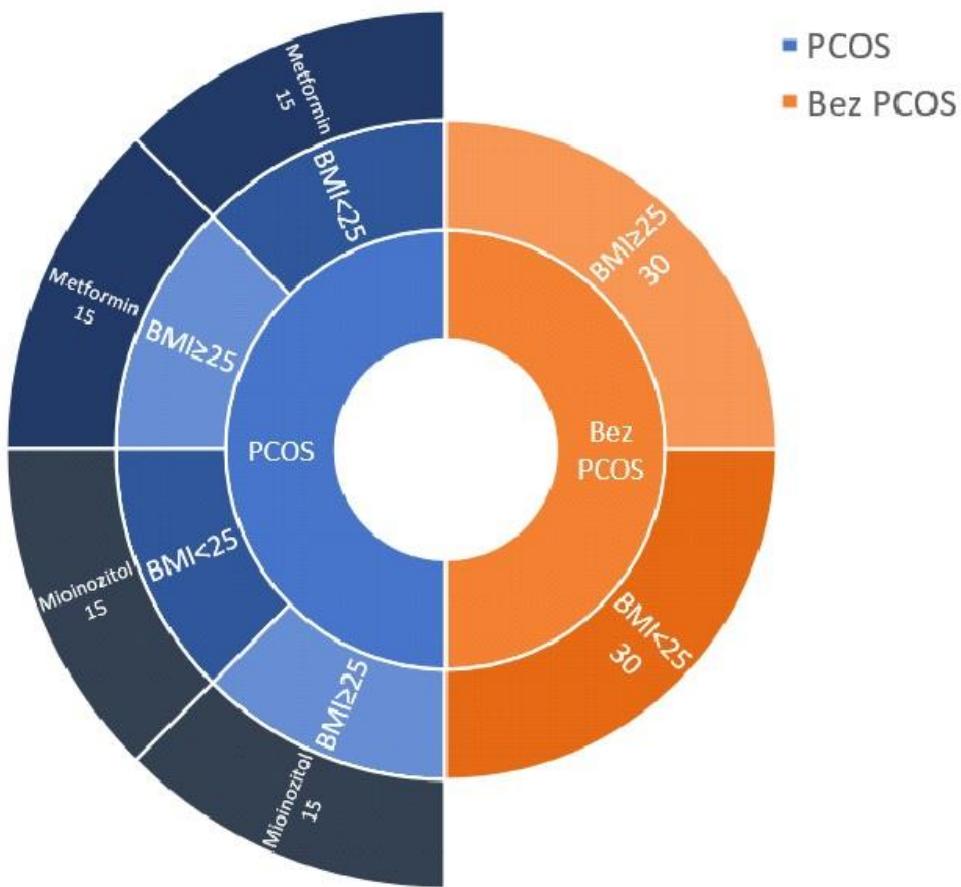
Za potrebe ovog istraživanja, u studiju je bilo uključeno šezdeset ispitanica ženskog pola, starosti od 17 do 40 godina, 30 mršavih sa  $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$  i 30 prekomjerno uhranjenih/gojaznih sa  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$ , kojima je u Univerzitetskom Kliničkom centru Republike Srpske u Banjaluci dijagnostikovan sindrom policističnih jajnika (PCOS), i 60 zdravih žena reproduktivne dobi, starosti od 17 do 40 godina, sa normalnim menstrualnim ciklusima, koje odgovaraju po starosti i tjelesnoj masi studijskoj grupi: 30 mršavih sa  $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$  i 30 prekomjerno uhranjenih/gojaznih sa  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$ .

Grupa žena sa PCOS po uvođenju terapije podijeljena je u dvije podgrupe. Prvu je činilo trideset ispitanica koje su liječene sa 1500 mg metformina, od toga petnaest sa  $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$  i petnaest sa  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$ . Drugu podgrupu činilo je trideset ispitanica, liječenih sa mioinozitolom 2x2 g plus folna kiselina 200 mg svaki dan, od toga petnaest sa  $ITM < 25 \text{ kg/m}^2$  i petnaest sa  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$ .

### **5.1. Kliničke, biohemijske, hormonske i ultrazvučne karakteristike ispitanica**

#### **5.1.1. Demografski podaci**

Studijsku grupu je činilo 60 žena, sa PCOS, podeljenih u 4 kategorije prema  $ITM$  i terapijskom režimu. 30 žena (25%) sa  $ITM < 25$ , od kojih su 15 (12,5%) bile na metforminu, a 15 (12,5%) na mioinozitolu. Drugih 30 pacijentkinja sa PCOS (25%) je imalo  $ITM \geq 25$ , od toga 15 (12,5%) na metforminu, a 15 (12,5%) na mioinozitolu. Ostali podaci su predstavljeni grafički (Slika 8).



Slika 8. Distribucija ispitanica prema ITM i terapiji

### 5.1.2. Kliničke karakteristike zdravih i pacijentica sa PCOS

Kod svih ispitanica analizirani su anamnistički podaci o dužini menstrualnog ciklusa. Kod svih ispitanica kontrolne grupe dužina menstrualnog ciklusa se kretala od 21 do 35 dana, dok je kod žena sa PCOS amenoreja/oligomenoreja bila prisutna kod 51 (85%) ( $p<0,01$ ).

Policističan izgled jajnika imalo je 51 (85%) žena sa PCOS, naspram 2 (3,3%) žena kontrolne grupe ( $p<0,01$ ).

Kliničke karakteristike ispitanica prikazane su u Tabeli 1.

Uzrast ispitanica, ITM, tjelesna težina, obim struka, odnos obima struka i obima kuka, vrednost SKP i DKP nisu se značajno razlikovale među grupama ispitanica ( $p>0,05$ ). Sa druge strane F-G skor u grupi ispitanica sa PCOS je bio statistički značajno viši ( $<0,001$ ).

Tabela 1. Kliničke karakteristike ispitanica

	PCOS (n=30)	Kontrole (n=30)	p
Uzrast, godine	25,33 ±5,0	27,07 ± 5,04	0,061
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	26,13±5,47	25,17±5,18	0,325
Tjelesna težina, kg	74,00±16,73	72,14±15,23	0,525
Obim struka, cm	83,32±14,04	80,42±11,45	0,217
Obim struka/obim kuka	0,93±0,09	0,92±0,07	0,476
Ferriman-Gallwey skor	14 (5-28)	5 (1-14)	<0,01
SKP, mmHg	120,83±11,04	118,33±6,94	0,157
DKP, mmHg	80,45±8,82	78,87±4,78	0,225
Body fat mass, (kg)	25,74±12,17	23,89±10,36	0,371
Body fat mass, (%)	32,44±9,64	31,89±8,03	0,733
Soft lean mass, (kg)	45,71±5,53	45,46±6,58	0,820
Skeletal muscle mass, (kg)	26,85±3,53	26,74±4,24	0,883

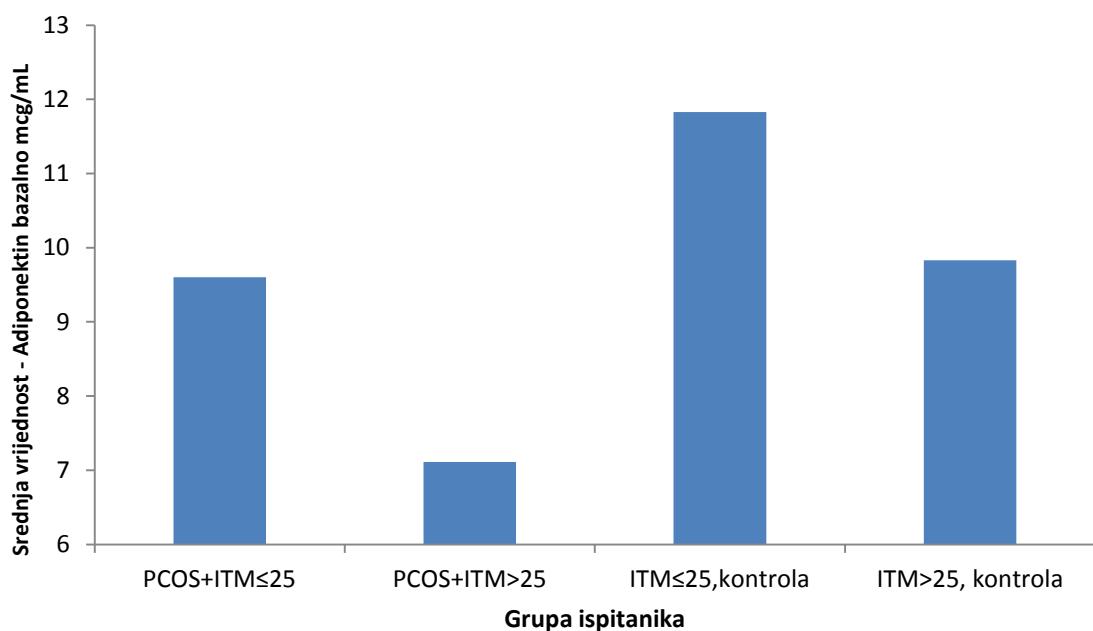
### 5.1.3. Biohemijeske karakteristike zdravih i pacijentica sa PCOS

Rezultati biohemijskih analiza prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Biohemijeske karakteristike ispitanica

	PCOS (n=30)	Kontrole (n=30)	p
Holesterol, mmol/L	4,72±0,92	4,84±0,85	0,477
HDL, mmol/L	1,43±0,33	1,50±0,33	0,224
LDL, mmol/L	2,92±0,81	2,98±0,64	0,637
Trigliceridi, mmol/L	1,20±0,63	1,00±0,87	0,163
Ox-LDL, ng/mL	106,38±49,71	97,62±31,65	0,252
hs-CRP, mg/L	1,62 (0,03-9,64)	0,91 (0,10-8,40)	0,693
Adiponektin, mcg/mL	8,91±3,89	10,83±5,17	<b>0,023</b>

Prosječne vrijednosti ukupnog holesterola, LDL, HDL, triglicerida i hs-CRP nisu se statistički značajno razlikovale među ispitivanim grupama ( $p>0,05$ ). Vrijednosti adiponektina bile su statistički značajno niže u grupi žena sa PCOS ( $p=0,023$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. Unutar grupe podjeljenih prema ITM, najniže vrijednosti adiponektina su bile u grupi prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS i značajno su se razlikovale u odnosu na grupe prekomjerno uhranjenih/gojaznih ( $7,11\pm2,96$  prema  $9,82\pm4,25$  mcg/mL;  $p<0,01$ ) i normalno uhranjenih ( $7,11\pm2,96$  prema  $11,83\pm5,84$  mcg/mL;  $p<0,001$ ) zdravih žena, prikazano na Slici 9.



Slika 9. Koncentracije adiponektina stratifikovane prema ITM kod zdravih i pacijentkinja sa PCOS

#### **5.1.4. Hormonski status zdravih i žena sa PCOS**

Vrijednosti dobijene analizom hormonskog statusa prikazane su u Tabeli 3.

Vrijednosti prolaktina, bazalnog insulina, ACTH i kortizola se nisu razlikovale među grupama ( $p>0,05$ ) dok su se LH, FSH, estradiol, testosteron, FAI, DHEAS, SHBG, 17-OH progesteron i AMH statistički značajno razlikovali među ispitivanim grupama ( $p<0,01$ ;  $p=0,015$ ;  $p<0,01$ ;  $p<0,01$ ;  $p<0,01$ ,  $p<0,01$ ;  $p<0,01$ ,  $p<0,01$  redom).

Tabela 3. Hormonski status pacijentica sa PCOS i zdravih kontrola

	PCOS (n=30)	Kontrole (n=30)	p
LH (mIU/mL)	7,63 ± 4,49	5,60 ± 3,48	<0,01
FSH (mIU/mL)	6,53 ± 1,98	7,57 ± 2,62	0,015
Estradiol (pg/mL)	65,85 ± 47,51	45,37 ± 16,19	<0,01
Bazalni insulin (mU/L)	12,26±4,75	10,52±5,79	0,070
Ukupni testosteron (ng/mL)	0,61 ± 0,22	0,27 ± 0,09	<0,01
SHBG (nmol/L)	45,02 ± 25,08	70,35 ± 34,08	<0,01
FAI	6,24 ± 4,74	1,71 ± 1,27	<0,01
DHEAS (mcg/dL)	360,40 ± 133,33	208,65 ± 82,99	<0,01
17-OHP (ng/mL)	1,07 ±0,73	0,60 ± 0,31	<0,01
AMH (ng/mL)	7,71 ± 4,71	3,69 ± 1,81	<0,01
ACTH (pg/mL)	25,84 ± 14,01	24,36 ± 17,20	0,606
Kortizol (nmol/L)	447,53 ± 133,54	420,59 ± 150,58	0,302
Prolaktin (μIU/mL)	343,01 ± 135,33	330,08 ± 163,99	0,639
FT4 (pmol/L)	14,70 ± 1,70	14,79 ± 1,51	0,767
TSH (μIU/mL)	2,43 ± 1,15	2,31 ± 0,93	0,537

### 5.1.5. Biohemijske i hormonske promjene tokom OGTT

Tokom standardnog OGTT mjerene su vrijednosti glukoze i insulina u 0, 30, 60, 90 i 120-om minutu. U Tabeli 4 prikazane su vrijednosti glukoze, koje su se statistički značajno razlikovale u 30, 60 i 90-om minutu OGTT testa ( $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ;  $p=0,036$ , redom), i insulina izmjerenih tokom OGTT, koje su se statistički značajno razlikovale u 30, 60, 90, 120-om min kod pacijentkinja sa PCOS i u kontrolnoj grupi ( $p=0,046$ ;  $p<0,01$ ;  $p<0,01$ ;  $p<0,01$ , redom).

Tabela 4. Vrijednosti glukoze i insulina tokom OGTT

	PCOS (n=30)	Kontrole (n=30)	p
Glukoza 0' (mmol/L)	4,86 ± 0,51	4,96 ± 0,40	0,220
Glukoza 30' (mmol/L)	8,08 ± 1,30	7,35 ± 1,39	<b>0,003</b>
Glukoza 60' (mmol/L)	7,66 ± 2,28	6,20 ± 1,84	<0,01
Glukoza 90' (mmol/L)	6,47 ± 2,06	5,76 ± 1,57	<b>0,036</b>
Glukoza 120' (mmol/L)	5,82 ± 1,73	5,31 ± 1,37	0,078
Insulin 0' (mU/L)	12,29 ± 4,75	10,52 ± 5,79	0,070
Insulin 30' (mU/L)	87,42 ± 46,85	71,82 ± 37,38	<b>0,046</b>
Insulin 60' (mU/L)	110,54 ± 83,96	63,53 ± 39,24	<0,01
Insulin 90' (mU/L)	104,43 ± 91,75	57,36 ± 43,37	<0,01
Insulin 120' (mU/L)	69,59 ± 51,01	40,45 ± 31,07	<0,01

Vrijednost pokazatelja insulinske rezistencije HOMA-IR je bila značajno viša u grupi žena sa PCOS ( $p=0,021$ ). Vrijednost parametra insulinske osjetljivosti QUICKI je bila značajno niža u grupi žena sa PCOS ( $p=0,047$ ). Vrijednosti AUC glukoze i AUC insulina izmjerjenih tokom OGTT kod pacijentkinja sa PCOS bile su statististički značajno više u odnosu na kontrolnu grupu ( $p<0,01$ ) (Tabela 5).

Tabela 5. Vrijednosti pokazatelja insulinske osjetljivosti i insulinske rezistencije

	PCOS (n=30)	Kontrole (n=30)	p
HOMA-IR	2,67 ± 1,10	2,31 ± 1,3*	<b>0,021</b>
QUICKI	0,34 ± 0,02	0,35 ± 0,03	<b>0,047</b>
AUC glukoze	13,78 ± 2,82	12,23 ± 2,42	<0,01
AUC insulina	171,67 ± 97,04	109,10 ± 55,44	<0,01

\*HOMA je logaritamski transformisana

## **5.2. Povezanost biomarkera adiponektina sa antropometrijskim, biohemijskim i hormonskim parametrima žena sa PCOS**

Kod pacijentkinja sa PCOS utvrđene su značajne negativne korelacije između adiponektina i ITM ( $r=-0,503$ ;  $p<0,001$ ), tjelesne težine ( $r=-0,434$ ;  $p=0,001$ ), OS ( $r=-0,478$ ;  $p<0,001$ ), odnosa struk-kuk (-0,465;  $p<0,001$ ), masne mase ( $r=-0,475$ ;  $p<0,001$ ) i udjela tjelesne masti (%) ( $r=-0,405$ ;  $p=0,001$ ). Utvrđene su i značajne negativne korelacije adiponektina sa HOMA-IR ( $r=-0,547$ ;  $p<0,001$ ),  $AUC_{\text{glucose}}$  ( $r=-0,345$ ;  $p=0,007$ ) i  $AUC_{\text{insulin}}$  ( $r=-0,393$ ;  $p=0,002$ ) i pozitivne korelacije adiponektina sa QUICKI ( $r=0,496$ ;  $p<0,001$ ) i HDL ( $0,439$ ;  $p<0,001$ ). Adiponektin je negativno korelirao sa FAI ( $r=-0,425$ ;  $p=0,001$ ), a pozitivno sa SHBG ( $r=0,532$ ;  $p<0,001$ ).

## **5.3. Analiza faktora povezanih sa adiponektinom kod žena sa PCOS**

Da bi se odredile nezavisne varijable koju mogu predvidjeti prisustvo PCOS, urađena je univarijantna i multivariatna logistička regresiona analiza. Za svaki od parametara od bitnosti je određena *cut-off* vrijednost sa ROC krivuljama i AUC vrijednostima. U univarijantnoj analizi za nađene *cut-off* vrijednosti, statistički značajnu povezanost sa PCOS su imali BFM (%) (OR 3,01;  $p=0,019$ ); DBP (OR 9,08;  $p=0,041$ ); LDL (OR 0,34;  $p=0,01$ ); TG (OR 3,00;  $p=0,004$ ); ox-LDL (OR 3,05;  $p=0,014$ ); adiponektin (OR 0,231;  $p=0,002$ ); glukoza u gladovanju (OR 0,48;  $p=0,046$ ); insulin u gladovanju (OR 3,52;  $p=0,002$ ); HOMA-IR (OR 4,13;  $p<0,001$ ); QUICKI (OR 0,32;  $p=0,004$ );  $AUC_{\text{insulina}}$  (OR 3,51;  $p=0,002$ ); LH (OR 23,33;  $p=0,003$ ); FSH (OR 0,35;  $p=0,006$ ); Estradiol (OR 2,27;  $p=0,029$ ); Testosteron (OR >50;  $p<0,001$ ); SHBG (OR 0,13;  $p<0,001$ ); FAI (OR 38,5;  $p<0,001$ ); DHEAS (OR 10,4;  $p<0,001$ ); AMH (OR 8,25;  $p<0,001$ ) (Tabela 6).

Tabela 6. Univarijantna binarna logistička regresiona analiza prediktora PCOS

Parametar	Cut-off	AUC <sub>ROC</sub>	OR univarijantna (CI 95%)	p (OR)
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28,3	0,552	2,093	0,073
<b>OS (cm)</b>	91	0,562	2,143	0,088
<b>Udio masti (%)</b>	24,8	0,473	3,012 (1,198-7,573)	<b>0,019</b>
<b>Odnos stuk-kuk</b>	0,98	0,533	1,977	0,130
<b>SKP (mmHg)</b>	130	0,539	2,509	0,199
<b>DKP (mmHg)</b>	90	0,493	9,077 (1,098-75,020)	<b>0,041</b>
<b>Ukupni holesterol (mmol/L)</b>	5,1	0,551	0,576	0,168
<b>HDL (mmol/L)</b>	1,5	0,445	0,689	0,337
<b>LDL (mmol/L)</b>	2,5	0,545	0,337 (0,146-0,775)	<b>0,010</b>
<b>TG (mmol/L)</b>	0,92	0,632	3,000 (1,424-6,319)	<b>0,004</b>
<b>hsCRP (mg/L)</b>	1,43	0,514	1,962	0,069
<b>Ox-LDL (ng/mL)</b>	125	0,528	3,051 (1,259-7,395)	<b>0,014</b>
<b>Adiponektin (μg/mL)</b>	7,7	0,682	0,176 (0,071-0,443)	<0,001
<b>Glukoza našte (mmol/L)</b>	4,8	0,583	0,476 (0,230-0,986)	<b>0,046</b>
<b>Insulin našte (μIU/mL)</b>	8,8	0,632	3,519 (1,604-7,691)	<b>0,002</b>
<b>HOMA-IR</b>	1,80	0,625	4,132 (1,863-9,164)	<0,001
<b>QUICKI</b>	0,34	0,599	0,323 (0,152-0,690)	<b>0,004</b>
<b>AUC<sub>glukoze</sub></b>	12,2	0,665	/	>0,5
<b>AUC<sub>insulin</sub></b>	123,175	0,726	3,512 (1,604-7,691)	<b>0,002</b>
<b>LH (mIU/mL)</b>	10,1	0,613	23,326 (2,989-182,05)	<b>0,003</b>
<b>FSH (mIU/mL)</b>	6,31	0,633	0,346 (0,162-0,737)	<b>0,006</b>
<b>Estradiol (pg/mL)</b>	50	0,638	2,270 (1,088-4,733)	<b>0,029</b>
<b>Testosteron (ng/mL)</b>	0,41	0,949	>50 (32,733-2107)	<0,001
<b>SHBG (nmol/L)</b>	59,5	0,730	0,135 (0,056-0,323)	<0,001
<b>FAI</b>	1,98	0,922	38,50 (12,013-123,382)	<0,001
<b>DHEAS (mcg/dL)</b>	278	0,830	10,394 (4,417-24,461)	<0,001
<b>AMH (ng/mL)</b>	4,69	0,817	8,250 (3,641-18,691)	<0,001
<b>ACTH (pg/mL)</b>	26,1	0,549	1,625	0,195
<b>Kortizol (nmol/L)</b>	273,8	0,561	2,750	0,075
<b>Prolaktin (μIU/mL)</b>	279,12	0,561	1,871	0,096
<b>FT4 (pmol/L)</b>	12,7	0,522	0,263	0,052
<b>TSH (μIU/mL)</b>	3,59	0,512	2,471	0,152
<b>Tjelesna masa (kg)</b>	68,4	0,527	1,711	0,145
<b>Masna masa (kg)</b>	32,2	0,542	0,632	0,288
<b>Skeletna mišićna masa (kg)</b>	23,8	0,534	1,977	0,130

Multivariantna analiza je rađena sa podacima za koje je dokazana statistička značajnost između kontrolne grupe i žena sa dokazanim PCOS.

Iako je model sa svim parametrima koji su prethodno navedeni imao visoku statističku značajnost ( $p<0,001$ ;  $R^2$  0,75-1,00), nijedan parametar pojedinačno u ovakvom modelu nije statistički značajno doprinosio modelu. Isprobani su drugi modeli.

U modelu 1 ("hormonski model") koji je uključivao testosteron, SHBG, FAI, DHEAS, LH, FSH, estradiol i AMH logistička regresija za navedene faktore na vjerovatnoću da ispitanici imaju PCOS je statistički bila značajna ( $\chi^2(8)=122,314$ ;  $p<0,001$ ). Model je objašnjavao 85,2% slučajeva sa PCOS ( $R^2$  Nagelkerke 0,852) i tačno je klasifikovao 94,2% slučajeva (Tabela 7).

Tabela 7. Multivariantna binarna logistička regresiona analiza predikotora PCOS u modelu 1

Parametar	Wald	OR multivariantna (CI 95%)	p (OR)	$\chi^2$	p	$R^2$
Testosteron	12,365	63,309 (6,272-639,064)	<0,001			
SHBG	0,001	1,061 (0,048-23,304)	>0,5			
FAI	3,548	19,881 (0,886-446,270)	0,06			
DHEAS	1,944	3,372 (0,611-18,617)	0,163			
LH	1,093	15,121 (0,093-2460)	0,296	122,314	<0,001	0,852
FSH	1,219	0,375 (0,066-2,140)	0,270			
Estradiol	0,002	0,961 (0,182-5,079)	0,961			
AMH	4,451	6,345 (1,140-35,306)	0,035			

Povećana koncentracija testosterona iznad izračunate *cut-off* vrijednosti je za više od 50 puta podizala vjerovatnoću za prisutni PCOS (Wald 12,365 (1);  $p<0,001$ ; OR 63,309 (6,272-639,064)).

Vrijednosti FAI su imale tendenciju da doprinose vjerovatnoći, ali sa nepostignutom statističkom značajnošću (Wald 3,548 (1);  $p=0,06$ ; OR 19,881 (0,886-446,270)). Pojedinačnu statističku značajnost je imao još AMH, sa rizikom za šest puta većim kod povećane vrijedosti (Wald 4,451 (1);  $p=0,035$ ; OR 6,345 (1,140-35,306)).

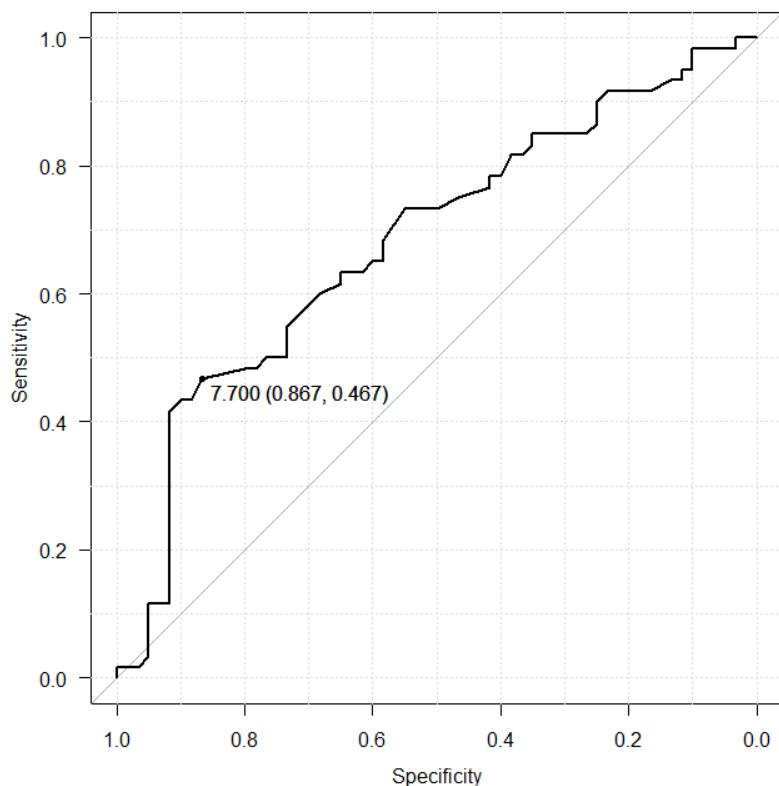
U modelu 2 ("glukometabolički model"), koji je uključivao HOMA-IR, QUICKI, AUC<sub>Insulina</sub>, insulin našte i glukozu našte, logistička regresija za navedene faktore, na

vjerovatnoću da ispitanici imaju PCOS, je bila statistički značajna ( $\chi^2(5)=74,837$ ;  $p<0,001$ ). Model je objašnjavao 61,9% slučajeva sa PCOS ( $R^2$  Nagelkerke 0,619) i tačno je klasifikovao 80,8% slučajeva (Tabela 8).

Od pojedinačnih faktora, glikemija našte je imala statistiku značajnost (*Wald* 8,127 (1);  $p=0,004$ ; OR 0,185 (0,058-0,590)). Skoro postignutu značajnost je imao HOMA-IR (*Wald* 3,612 (1);  $p=0,057$ ; OR 8,569 (0,936-78,540)).

Tabela 8. Multivarijantna binarna logistička regresiona analiza prediktora PCOS u modelu 2

Parametar	Wald	OR multivarijantna (CI 95%)	p (OR)	$\chi^2$	p	$R^2$
AUC <sub>Insulin</sub>	<0,0001	/	0,997			
<b>Insulin našte</b>	0,294	0,546 (0,061-4,865)	0,588			
<b>HOMA-IR</b>	3,612	8,569 (0,936-78,540)	0,057	74,837	<b>&lt;0,001</b>	0,619
<b>Glikoza našte</b>	8,127	0,185 (0,058-0,590)	<b>0,004</b>			
<b>QUICKI</b>	1,223	1,931 (0,246-15,134)	0,531			



Slika 10. ROC kriva za adiponektin

Da bi odredili prediktivnu moć adiponektina za dijagnozu PCOS, izračunata je ROC kriva. ROC analizom je dobijena granična vrijednost od 7,7 mcg/mL, sa senzitivnošću od 46,7% i specifičnošću od 86,7%, i AUC 0,682 (95% CI 0,585-0,779) (Slika 10).

U zavisnosti od utvrđene granične vrijednosti za adiponektin, koju smo dobili u ispitivanju poređenja kontrole sa bolesnicama sa PCOS, ispitivani su ostali parametri za koje je dobijena statistički značajna korelacija ili su bili od posebnog interesa. Granična vrijednost za adiponektin je iznosila 7,7 mcg/mL. U univarijantnoj binarnoj logističkoj regresionoj analizi za nađene *cut-off* vrijednosti, statistički značajnu razliku za OR su imali ITM (10,818; p<0,001); obim struka (6,333; p=0,001); tjelesna masa (15,00; p=0,001); udio masne mase (5,370; p=0,020), odnos struk-kuk (8,333; p=0,003); HOMA-IR (9,720; p<0,001); AUC<sub>insulin</sub> (9,370; p<0,001), insulin naštete (11,0; p=0,007); SHBG (0,157; p=0,001), FAI (9,444; p=0,001); HDL (0,253; p=0,013); AUC<sub>glukoza</sub> (5,500; p=0,003) (Tabela 9).

Tabela 9. Univarijantna binarna logistička regresija sa adiponektinom kao ishodnom varijablom (*cut-off* 7,7 mcg/mL)

Parametar	Cut-off	AUC <sub>ROC</sub>	OR univarijantna (CI 95%)	p (OR)
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28,400	0,775	10,818 (2,968-39,432)	<b>&lt;0,001</b>
<b>OS (cm)</b>	83,000	0,745	6,333 (2,045-19,540)	<b>0,001</b>
<b>TT (kg)</b>	85,500	0,737	15,00 (2,993-75,169)	<b>0,001</b>
<b>Masna masa (%)</b>	38,600	0,751	5,370 (1,301-22,172)	<b>0,020</b>
<b>Odnos struk-kuk</b>	0,870	0,739	8,333 (2,089-33,243)	<b>0,003</b>
<b>HOMA-IR</b>	2,700	0,786	9,720 (2,847-33,190)	<b>&lt;0,001</b>
<b>QUICKI</b>	0,350	0,769	/	>0,5
<b>AUC<sub>insulin</sub></b>	141,875	0,758	9,370 (2,860-30,705)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Insulin naštete (μIU/ml)</b>	11,300	0,815	11,00 (3,292 – 36,751)	<b>&lt;0,001</b>
<b>SHBG (nmol/l)</b>	39,900	0,757	0,157 (0,051-0,482)	<b>0,001</b>
<b>FAI</b>	3,900	0,699	9,444 (2,366-37,701)	<b>0,001</b>
<b>HDL (mmol/L)</b>	1,390	0,700	0,253 (0,086-0,746)	<b>0,013</b>
<b>Holesterol (mmol/l)</b>	4,600	0,546	2,631 (0,924-7,492)	0,070
<b>AUC<sub>glukoza</sub></b>	13,125	0,708	5,500 (1,813-16,681)	<b>0,003</b>

Multivariantna analiza je rađena sa podacima za koje je dokazana statistička značajnost u prethodnoj analizi. Iako je model sa svim parametrima koji su prethodno navedeni imao visoku statističku značajnost ( $\chi^2(12)=41,573$ ;  $p<0,001$ ;  $R^2 = 0,667$ ), nijedan parametar pojedinačno u ovakovom modelu nije statistički značajno doprinosio modelu. Urađeni su drugi modeli (Tabela 10).

Mješoviti model 1 sa parametrima ITM, OS, masna masa, HOMA-IR i FAI je imao visoku značajnost ( $\chi^2(5)=29,912$ ;  $p<0,001$ ). Model je objašnjavao 52,4% slučajeva sa vrijednošću adiponektina iznad *cut-off-a* ( $R^2 Nagelkerke = 0,524$ ) i tačno je klasifikovao 78,3% slučajeva.

Od pojedinačnih varijabli u modelu, OR koji je imao statističku značajnost je za ITM (OR 24,896 (1,726-359,106);  $p=0,018$ ) i FAI (OR 6,688 (1,082-41,329);  $p=0,041$ ), a HOMA-IR je skoro postigao značajnot (OR 6,664;  $p=0,052$ ).

U modelu 2 logistička regresija, za uticaj faktora: HOMA-IR, SHBG i ITM na vjerovatnoću da ispitanici imaju povišene vrijednosti adiponektina, je bila statistički značajna ( $\chi^2(3)=23,675$ ;  $p<0,001$ ). Model je objašnjavao 43,5% slučajeva sa vrijednošću adiponektina iznad *cut-off-a* ( $R^2 Nagelkerke = 0,435$ ) i tačno je klasifikovao 81,7% slučajeva.

Od pojedinačnih varijabli u modelu statističku značajnost je postigla samo vrijednost ITM (OR 5,203 (1,243-21,782);  $p=0,024$ ).

U modelu 3 logistička regresija za uticaj faktora: ITM, OS, QUICKI, AUC<sub>Glukoza</sub> i FAI, je imala visoku značajnost ( $\chi^2(5)=31,026$ ;  $p<0,001$ ). Model je objašnjavao 53,9% slučajeva sa vrijednošću adiponektina iznad *cut-off-a* ( $R^2 Nagelkerke = 0,539$ ) i tačno je klasifikovao 76,7% slučajeva.

Od pojedinačnih varijabli u modelu, OR koji je imao statističku značajnost je bio ITM (OR 5,445 (0,981-30,221);  $p=0,053$ ) i FAI (OR 5,654 (1,012-31,581);  $p=0,048$ ).

Postojala je visoka statistička značajnost u modelu 4 sa parametrima ITM, OS, HDL, HOMA-IR i FAI, provjerena binarnom logističkom regresijom prema navedenim kategorijama ( $\chi^2(5)=27,109$ ;  $p<0,001$ ). Model je objašnjavao 48,5% slučajeva sa vrijednošću adiponektina iznad *cut-off-a* ( $R^2 Nagelkerke = 0,485$ ) i tačno je klasifikovao 83,3% slučajeva.

Od pojedinačnih varijabli u modelu, OR koji je imao statističku značajnost je za ITM (6,932 (1,123-42,781);  $p=0,037$ ) i FAI (5,710 (1,113-29,294);  $p=0,037$ ).

Tabela 10. Multivarijantna binarna logistička regresija sa adiponektinom kao ishodnom varijablom (*cutt-off* 7,7 mcg/mL).

Parametar	OR	CI 95%	p	$\chi^2$	R <sup>2</sup>
<b>Model 1: ITM, OS, masna masa, HOMA-IR, FAI</b>					
<b>ITM</b>	24,896	1,726-359,106	0,018		
<b>FAI</b>	6,688	1,082-41,329	0,041	29,9; p<0,001	0,524
<b>HOMA-IR</b>	6,664	0,984-45,126	0,052		
<b>Model 2: HOMA-IR, SHBG, ITM</b>					
<b>ITM</b>	5,203	1,243-21,782	0,024	23,6; p<0,001	0,435
<b>Model 3: ITM, OS, QUICKI, AUC<sub>Glukoza</sub>, FAI</b>					
<b>FAI</b>	5,65	1,012-31,581	0,048		
<b>ITM</b>	5,44	0,981-30,221	0,053	31,0; p<0,001	0,539
<b>Model 4: ITM, OS, HDL, HOMA-IR, FAI</b>					
<b>FAI</b>	5,710	1,113-29,294	0,037		
<b>ITM</b>	6,932	1,123-42,781	0,037	27,109; p<0,001	0,485

#### 5.4. Kliničke, biohemijske i hormonske karakteristike žena sa PCOS posle sprovedene šestomjesečne terapije

Pacijentkinje sa PCOS su šest mjeseci primjenivale određenu terapiju insulinskim senzitajzerima i kod 35 (58,3%) je došlo do regulacije menstrualnog ciklusa čija dužina je iznosila 21-35 dana i kod obe grupe bila statistički značajno različita u odnosu na početak liječenja (p<0,001). Kliničke karakteristike žena sa PCOS, prije i posle terapije, prikazane su u Tabeli 11.

U obe grupe ispitanica, nakon provedene terapije, registrovana je statistički značajno manja tjelesna masa, ITM, OS i masna masa. Odnos struk-kuk, nemasna masa i skeletna mišićna masa, kao i sistolni krvni pritisak nisu se posle sprovedene terapije statistički

značajno razlikovali od vrijednosti dobijenih prije započinjanja terapije ( $p>0,05$ ). Kod pacijentkinja prve grupe posle sprovedene terapije registrovan je statistički značajno manji Ferriman–Gallwey skor ( $p=0,001$ ). Kod pacijentkinja druge grupe posle sprovedene terapije je izmjerен statistički značajno manji udio masne mase ( $p=0,007$ ) i niži dijastolni krvni pritisak ( $p=0,021$ ).

Tabela 11. Kliničke karakteristike žena sa PCOS stratifikovanih prema primjenjenoj terapiji

	MET <sup>a</sup>			MI <sup>b</sup>		
	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p
<b>Tjelesna masa (kg)</b>	71,53 ( $\pm 16,60$ )	69,64 ( $\pm 15,63$ )	<b>0,007</b>	76,48 ( $\pm 16,77$ )	74,21 ( $\pm 16,35$ )	<b>0,034</b>
<b>OS (cm)</b>	82,27 ( $\pm 13,35$ )	80,07 ( $\pm 13,07$ )	<b>0,004</b>	84,37 ( $\pm 14,84$ )	81,87 ( $\pm 13,56$ )	<b>0,005</b>
<b>ITM</b>	25,76 ( $\pm 5,64$ )	24,70 ( $\pm 5,31$ )	<b>0,005</b>	26,49 ( $\pm 5,36$ )	25,69 ( $\pm 5,15$ )	<b>0,037</b>
<b>Masna masa (kg)</b>	24,87 ( $\pm 11,79$ )	23,60 ( $\pm 10,40$ )	<b>0,007</b>	26,61 ( $\pm 12,68$ )	24,14 ( $\pm 12,14$ )	<b>0,009</b>
<b>Udio masti (%)</b>	31,92 ( $\pm 9,42$ )	30,94 ( $\pm 18,56$ )	0,144	32,96 ( $\pm 9,98$ )	30,83 ( $\pm 9,75$ )	<b>0,007</b>
<b>Nemasna masa (kg)</b>	44,47 ( $\pm 5,60$ )	44,37 ( $\pm 5,86$ )	0,812	46,96 ( $\pm 5,26$ )	46,99 ( $\pm 5,46$ )	0,915
<b>Skeletna mišićna masa (kg)</b>	26,10 ( $\pm 3,59$ )	26,10 ( $\pm 3,85$ )	0,989	27,60 ( $\pm 3,35$ )	27,70 ( $\pm 3,46$ )	0,598
<b>Odnos struk-kuk</b>	0,92 ( $\pm 0,08$ )	0,92 ( $\pm 0,08$ )	0,738	0,94 ( $\pm 0,09$ )	0,93 ( $\pm 0,09$ )	0,168
<b>FG skor</b>	14,53 ( $\pm 5,31$ )	13,47 ( $\pm 4,81$ )	<b>0,001</b>	16,70 ( $\pm 6,27$ )	16,23 ( $\pm 6,59$ )	0,288
<b>SKP (mmHg)</b>	118,93 ( $\pm 9,75$ )	119,00 ( $\pm 9,21$ )	0,943	122,53 ( $\pm 12,08$ )	120,63 ( $\pm 11,72$ )	0,326
<b>DKP (mmHg)</b>	78,20 ( $\pm 6,71$ )	78,63 ( $\pm 5,45$ )	0,508	82,70 ( $\pm 10,13$ )	81,10 ( $\pm 8,28$ )	<b>0,021</b>

<sup>a</sup> MET – liječeni metforminom

<sup>b</sup> MI – liječeni mioinozitolom

Biohemskijske karakteristike žena sa PCOS, prije i poslije terapije prikazane su u Tabeli 12.

Prosječne vrijednosti holesterola, LDL holesterola, Ox-LDL holesterola, HDL holesterola, triglicerida i hsCRP kod ispitanica prve grupe, te LDL holesterola, Ox-LDL holesterola, HDL holesterola i triglicerida, kod ispitanica druge grupe, nisu se statistički značajno razlikovale od izmjerenih vrijednosti prije započinjanja terapije ( $p>0,05$ ). U prvoj grupi ispitanica posle sprovedenog liječenja registrovan je statistički značajan porast nivoa adiponektina ( $p=0,046$ ), dok se u drugoj grupi vrijednosti izmjerenog adiponektina nisu statistički značajno razlikovale od izmjerenih vrijednosti prije započinjanja terapije ( $p>0,05$ ). U drugoj grupi ispitanica poslije sprovedenog liječenja registrovan je statistički značajan

porast hs-CRP ( $p=0,025$ ) i došlo je do statistički značajnog smanjenja vrijednosti ukupnog holesterola ( $p=0,008$ ).

Tabela 12. Biohemijske karakteristike žena sa PCOS stratifikovanih prema primjenjenoj terapiji

	MET <sup>a</sup>			MI <sup>b</sup>		
	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p
<b>Adiponektin (µg/mL)</b>	8,02 ( $\pm 2,94$ )	8,63 ( $\pm 3,55$ )	<b>0,046</b>	9,79 ( $\pm 4,54$ )	8,62 ( $\pm 4,05$ )	0,245
<b>hsCRP (mg/L)</b>	2,41 ( $\pm 2,35$ )	2,12 ( $\pm 1,96$ )	0,446	1,93 ( $\pm 1,98$ )	2,56 ( $\pm 2,35$ )	<b>0,025</b>
<b>Ox-LDL (ng/mL)</b>	110,50 ( $\pm 54,97$ )	105,73 ( $\pm 51,65$ )	0,181	102,27 ( $\pm 44,39$ )	100,13 ( $\pm 41,71$ )	0,670
<b>TC (mmol/L)</b>	4,56 ( $\pm 0,89$ )	4,36 ( $\pm 0,69$ )	0,116	4,88 ( $\pm 0,94$ )	4,59 ( $\pm 0,68$ )	<b>0,008</b>
<b>LDL (mmol/L)</b>	2,76 ( $\pm 0,77$ )	2,66 ( $\pm 0,74$ )	0,309	3,08 ( $\pm 0,82$ )	2,99 ( $\pm 0,75$ )	0,247
<b>HDL (mmol/L)</b>	1,46 ( $\pm 0,35$ )	1,48 ( $\pm 0,34$ )	0,581	1,40 ( $\pm 0,31$ )	1,38 ( $\pm 0,31$ )	0,579
<b>TG (mmol/L)</b>	1,21 ( $\pm 0,73$ )	1,09 ( $\pm 0,54$ )	0,280	1,18 ( $\pm 0,53$ )	1,08 ( $\pm 0,57$ )	0,157
<b>AUC<sub>Glukoze</sub></b>	14,52 ( $\pm 3,09$ )	13,52 ( $\pm 3,21$ )	<b>0,030</b>	13,04 ( $\pm 2,35$ )	13,03 ( $\pm 2,84$ )	0,157
<b>AUC<sub>Insulin</sub></b>	169,96 ( $\pm 95,67$ )	146,19 ( $\pm 68,87$ )	0,233	173,37 ( $\pm 99,99$ )	176,31 ( $\pm 87,63$ )	0,980
<b>HOMA-IR</b>	2,52 ( $\pm 0,90$ )	2,43 ( $\pm 1,26$ )	0,632	2,82 ( $\pm 1,26$ )	2,50 ( $\pm 1,45$ )	0,127
<b>QUICKI</b>	0,34 ( $\pm 0,018$ )	0,34 ( $\pm 0,031$ )	0,237	0,33 ( $\pm 0,024$ )	0,34 ( $\pm 0,026$ )	0,127

<sup>a</sup> MET – liječeni metforminom

<sup>b</sup> MI – liječeni mioinozitolom

U obe grupe ispitanica izmjerene vrijednosti indeksa insulinske rezistencije HOMA-IR, AUC<sub>Insulin</sub> i insulinske osjetljivosti QUICKI nisu se statistički značajno razlikovale od izmjerenih vrijednosti prije započinjanja terapije ( $p>0,05$ ). Posle sprovedenog liječenja, došlo je do statistički značajnog sniženja AUC<sub>Glukoze</sub> kod ispitanica prve grupe ( $p=0,030$ ).

Hormonske karakteristike žena sa PCOS, prije i poslije terapije prikazane su u Tabeli 13.

Prosječne izmjerene vrijednosti FSH, estradiola, prolaktina, fT4, TSH, ACTH, kortizola, DHEAS i SHBG u obe grupe, kao i vrijednosti AMH, testosterona, FAI i 17-OHP u drugoj grupi nisu se statistički značajno razlikovale od izmjerenih vrijednosti prije započinjanja terapije ( $p>0,05$ ). Poslije sprovedene terapije u prvoj grupi došlo je do statistički značajnog pada serumske vrijednosti AMH, testosterona, FAI i 17-OHP ( $p=0,041$ ;  $p=0,006$ ;

$p=0,006$ ;  $p=0,041$ ; redom). U drugoj grupi posle sprovedene terapije registrovane su statistički značajno niže vrijednosti LH ( $p=0,020$ ).

Tabela 13. Hormonske karakteristike žena sa PCOS stratifikovanih prema primjenjenoj terapiji

	MET <sup>a</sup>			MI <sup>b</sup>		
	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p
<b>Testosteron (ng/mL)</b>	0,53 ( $\pm 0,17$ )	0,45 ( $\pm 0,13$ )	<b>0,013</b>	0,69 ( $\pm 0,23$ )	0,62 ( $\pm 0,27$ )	0,115
<b>SHBG (nmol/L)</b>	45,07 ( $\pm 27,64$ )	48,42 ( $\pm 24,79$ )	0,108	44,97 ( $\pm 22,70$ )	49,82 ( $\pm 29,21$ )	0,067
<b>FAI</b>	5,78 ( $\pm 4,54$ )	4,13 ( $\pm 2,78$ )	<b>0,006</b>	6,69 ( $\pm 4,96$ )	6,50 ( $\pm 7,48$ )	0,786
<b>DHEAS (mcg/dL)</b>	369,85 ( $\pm 126,21$ )	375,11 ( $\pm 111,24$ )	0,644	350,96 ( $\pm 141,62$ )	374,57 ( $\pm 157,39$ )	0,110
<b>17-OHP (ng/mL)</b>	1,06 ( $\pm 0,81$ )	0,71 ( $\pm 0,32$ )	<b>0,031</b>	1,07 ( $\pm 0,65$ )	0,83 ( $\pm 0,54$ )	0,063
<b>LH (mIU/mL)</b>	6,91 ( $\pm 0,3,46$ )	5,89 ( $\pm 3,40$ )	0,112	8,36 ( $\pm 5,29$ )	6,21 ( $\pm 3,59$ )	<b>0,020</b>
<b>FSH (mIU/mL)</b>	6,63 ( $\pm 1,85$ )	6,55 ( $\pm 2,08$ )	0,857	6,43 ( $\pm 2,12$ )	6,45 ( $\pm 2,08$ )	0,951
<b>Estradiol (pg/mL)</b>	60,94 ( $\pm 29,86$ )	50,33 ( $\pm 23,28$ )	0,056	70,77 ( $\pm 60,41$ )	48,32 ( $\pm 15,21$ )	0,058
<b>Anti-Müllerian (ng/mL)</b>	7,70 ( $\pm 5,70$ )	6,89 ( $\pm 4,62$ )	<b>0,041</b>	7,72 ( $\pm 3,54$ )	7,91 ( $\pm 4,51$ )	0,709
<b>ACTH (pg/mL)</b>	25,03 ( $\pm 14,85$ )	24,85 ( $\pm 13,12$ )	0,926	26,65 ( $\pm 13,33$ )	26,44 ( $\pm 13,59$ )	0,946
<b>Kortizol (nmol/L)</b>	461,22 ( $\pm 143,77$ )	474,27 ( $\pm 155,86$ )	0,692	433,84 ( $\pm 123,38$ )	496,40 ( $\pm 166,45$ )	0,078
<b>Prolaktin (μIU/mL)</b>	351,32 ( $\pm 149,84$ )	360,81 ( $\pm 199,63$ )	0,775	334,69 ( $\pm 121,10$ )	382,62 ( $\pm 200,59$ )	0,191
<b>FT4 (pmol/L)</b>	14,79 ( $\pm 1,69$ )	15,08 ( $\pm 1,48$ )	0,334	14,62 ( $\pm 1,74$ )	15,15 ( $\pm 1,79$ )	0,121
<b>TSH (μIU/mL)</b>	2,49 ( $\pm 1,15$ )	2,21 ( $\pm 0,98$ )	0,110	2,38 ( $\pm 1,16$ )	2,34 ( $\pm 1,20$ )	0,826

<sup>a</sup> MET – liječeni metforminom

<sup>b</sup> MI – liječeni mioinozitolom

## 5.5. Uticaj terapije MET i MI unutar podgrupa normalno uhranjenih i prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS

Analiza kliničkih i antropometrijskih karakteristika unutar podgrupa žena sa PCOS sa  $ITM \leq 25 \text{ kg/m}^2$  i  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$  prije i nakon šestomjesečne terapije sa dva različita tretmana je prikazana u Tabeli 14.

Tabela 14. Kliničke karakteristike žena sa PCOS stratifikovanih prema ITM na početku i nakon 6 mjeseci terapije sa metforminom (MET) i mioinozitolom (MI)

	MET (n=30)						MI (n=30)					
	ITM $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ (n=15)			ITM $> 25 \text{ kg/m}^2$ (n=15)			ITM $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ (n=15)			ITM $> 25 \text{ kg/m}^2$ (n=15)		
	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p
<b>Tjedna masa (kg)</b>	57,99 ( $\pm 5,67$ )	57,07 ( $\pm 5,08$ )	0,108	85,06 ( $\pm 12,09$ )	82,22 ( $\pm 11,89$ )	<b>0,029</b>	62,46 ( $\pm 7,02$ )	61,60 ( $\pm 7,06$ )	0,225	90,50 ( $\pm 10,58$ )	86,81 ( $\pm 12,78$ )	0,072
<b>OS (cm)</b>	72,60 ( $\pm 7,82$ )	70,47 ( $\pm 7,34$ )	<b>0,022</b>	91,93 ( $\pm 10,40$ )	89,67 ( $\pm 10,13$ )	0,067	71,93 ( $\pm 7,77$ )	70,87 ( $\pm 7,77$ )	0,154	96,820 ( $\pm 8,03$ )	92,87 ( $\pm 7,83$ )	<b>0,016</b>
<b>ITM (<math>\text{kg/m}^2</math>)</b>	20,96 ( $\pm 2,04$ )	20,61 ( $\pm 1,79$ )	0,093	30,50 ( $\pm 3,52$ )	29,38 ( $\pm 3,76$ )	<b>0,019</b>	21,96 ( $\pm 2,34$ )	21,67 ( $\pm 2,46$ )	0,249	31,03 ( $\pm 3,16$ )	29,72 ( $\pm 3,80$ )	0,073
<b>Masna masa (kg)</b>	15,44 ( $\pm 5,51$ )	14,99 ( $\pm 4,66$ )	0,410*	34,30 ( $\pm 8,20$ )	31,13 ( $\pm 7,92$ )	<b>0,008</b>	15,73 ( $\pm 5,24$ )	14,74 ( $\pm 4,71$ )	0,151	37,50 ( $\pm 7,17$ )	33,53 ( $\pm 9,70$ )	<b>0,026</b>
<b>Udio masti (%)</b>	24,57 ( $\pm 6,56$ )	24,46 ( $\pm 6,10$ )	0,893	39,28 ( $\pm 4,99$ )	37,42 ( $\pm 4,97$ )	0,093	24,74 (6,46)	23,61 ( $\pm 5,86$ )	0,161	41,18 ( $\pm 4,45$ )	38,04 ( $\pm 7,15$ )	<b>0,009*</b>
<b>Nemasna masa (kg)</b>	41,11 ( $\pm 3,39$ )	40,63 ( $\pm 3,51$ )	0,260	47,83 ( $\pm 5,41$ )	48,12 ( $\pm 5,36$ )	0,664	43,87 ( $\pm 3,51$ )	43,96 ( $\pm 3,88$ )	0,811	50,04 ( $\pm 4,97$ )	50,02 ( $\pm 5,20$ )	0,953
<b>Odnos struk/kuk</b>	0,86 ( $\pm 0,04$ )	0,86 ( $\pm 0,04$ )	0,892	0,98 ( $\pm 0,062$ )	0,95 ( $\pm 0,062$ )	0,719	0,87 (0,055)	0,86 ( $\pm 0,52$ )	0,204	1,02 ( $\pm 0,056$ )	1,00 ( $\pm 0,07$ )	0,367
<b>F-G skor</b>	13,93 ( $\pm 4,99$ )	12,93 ( $\pm 4,60$ )	0,069	15,13 ( $\pm 5,72$ )	14,00 ( $\pm 5,11$ )	<b>0,009</b>	15,93 ( $\pm 5,91$ )	15,00 ( $\pm 5,84$ )	0,340*	17,47 ( $\pm 6,73$ )	17,47 ( $\pm 7,26$ )	1,00

\*vrijednosti su dobijene Wilcoxon signet rang testom

Analiza podgrupa je pokazala da je nakon šest mjeseci terapije sa MET došlo do značajnog smanjenja tjelesne mase ( $p=0,029$ ), ITM ( $p=0,019$ ), masne mase ( $p=0,008$ ), i F-G skora ( $p=0,009$ ) kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS, a smanjenja OS ( $p=0,022$ ) i udjela masti ( $p=0,009$ ) kod normalno uhranjenih žena sa PCOS. Nakon šestomjesečne terapije sa MI smanjenje OS ( $p=0,016$ ) i masne mase ( $p=0,026$ ) je opaženo kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS.

Analiza biohemijskih karakteristika unutar podgrupa žena sa PCOS sa  $ITM \leq 25 \text{ kg/m}^2$  i  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$  prije i nakon šestomjesečne terapije sa dva različita tretmana je prikazana u Tabeli 15.

Šestomjesečna terapija metforminom dovela je do redukcije nivoa adiponektina ( $p=0,030$ ) u grupi prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS i vrijednosti  $AUC_{\text{Glukoze}}$  ( $p=0,017$ ) u grupi normalno uhranjenih žena sa PCOS. Smanjenje glikemije našte ( $p=0,006$ ) i 2h- insulina u OGTT testu ( $p=0,015$ ) je uočeno nakon šestomjesečne terapije sa MI kod normalno uhranjenih žena sa PCOS.

Analiza hormonskih parametara unutar podgrupa žena sa PCOS sa  $ITM \leq 25 \text{ kg/m}^2$  i  $ITM > 25 \text{ kg/m}^2$  prije i nakon šestomjesečne terapije sa dva različita tretmana je prikazana u Tabeli 16.

Nakon šest mjeseci terapije sa MET došlo je do značajnog smanjenja nivoa LH ( $p=0,047$ ), estradiola ( $p=0,047$ ), ukupnog testosterona ( $p=0,019$ ), 17-OHP ( $p=0,047$ ) i FAI indeksa ( $p=0,008$ ) kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS, a smanjenja AMH ( $p=0,017$ ) kod normalno uhranjenih žena sa PCOS. Nakon šest mjeseci terapije sa MI došlo je do smanjenja nivoa estradiola ( $p=0,047$ ) kod normalno uhranjenih žena sa PCOS.

Tabela 15. Biohemijske karakteristike žena sa PCOS stratifikovanih prema ITM na početku i nakon 6 mjeseci terapije sa metforminom (MET) i mioinozitolom (MI)

	MET (n=30)						MI (n=30)					
	BMI≤25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)			BMI>25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)			BMI≤25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)			BMI>25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)		
	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p
<b>Adiponektin (µg/mL)</b>	10,61 (±4,45)	10,46 (±3,48)	0,513*	8,98 (±4,63)	6,79 (±3,83)	<b>0,030*</b>	8,60 (±3,72)	9,49 (±4,38)	0,362	7,44 (±1,82)	7,77 (±2,31)	0,478*
<b>Holesterol (mmol/L)</b>	4,37 (±0,54)	4,23 (±0,57)	0,436	4,76 (±1,12)	4,48 (±0,80)	0,180	4,60 (±0,74)	4,31 (±0,50)	0,129*	5,17 (±1,04)	4,87 (±0,73)	0,091
<b>LDL (mmol/L)</b>	2,58 (±0,63)	2,48 (±0,63)	0,490	2,94 (±0,87)	2,84 (±0,81)	0,478	2,84 (±0,56)	2,73 (±0,68)	0,228	3,32 (±0,98)	3,25 (±0,76)	0,207*
<b>HDL (mmol/L)</b>	1,58 (±0,39)	1,67 (±0,32)	0,278*	1,34 (±0,27)	1,29 (±0,25)	0,429	1,47 (±0,33)	1,49 (±0,34)	0,705	1,33 (±0,28)	1,27 (±0,25)	0,235*
<b>TG (mmol/L)</b>	0,81 (±0,32)	0,76 (±0,22)	0,447	1,61 (±0,81)	1,42 (±0,57)	0,393	1,03 (±0,34)	0,91 (±0,36)	0,147	1,33 (±0,64)	1,25 (±0,69)	0,493
<b>Glukoza našte (mmol/L)</b>	4,67 (±0,43)	4,45 (±0,59)	0,419*	5,13 (±0,53)	4,85 (±0,35)	0,081	4,64 (±0,47)	4,31 (±0,35)	<b>0,006</b>	5,00 (±0,47)	4,82 (±0,68)	0,180
<b>Glukoza 120' (mmol/L)</b>	6,01 (±1,79)	5,34 (±1,95)	0,262*	6,50 (±2,02)	6,47 (±1,66)	0,953	4,93 (±1,11)	5,12 (±1,55)	0,659	5,84 (±1,67)	5,55 (±1,54)	0,460
<b>AUC<sub>Glucoze</sub></b>	13,67 (±2,86)	12,06 (±2,88)	<b>0,017</b>	15,37 (±3,17)	14,98 (±2,92)	0,540	11,86 (±1,54)	12,21 (±2,82)	0,591	14,22 (±2,48)	13,85 (±2,70)	0,730*
<b>Insulin našte (µIU/mL)</b>	9,80 (±3,73)	8,69 (±2,61)	0,334	13,51 (±3,76)	14,42 (±6,22)	0,427	9,90 (±3,00)	9,21 (±3,40)	0,440	15,94 (±5,42)	14,54 (±5,83)	0,396
<b>Insulin120' (µIU/mL)</b>	66,08 (±52,72)	57,13 (±36,21)	0,650*	78,96 (±66,57)	84,69 (±52,57)	0,745	55,54 (±40,13)	79,24 (±61,66)	<b>0,015*</b>	77,79 (±41,89)	75,86 (±41,98)	0,869
<b>AUC<sub>Insulin</sub></b>	158,43 (±116,07)	115,60 (±35,75)	0,427*	181,50 (±72,11)	176,79 (±80,87)	0,846	141,86 (±72,90)	163,12 (±105,85)	0,159	204,87 (±115,20)	189,49 (±65,79)	0,543
<b>HOMA-IR</b>	2,03 (±0,76)	1,76 (±0,60)	0,274	3,02 (±0,76)	3,11 (±1,41)	0,770	2,08 (±0,71)	1,79 (±0,77)	0,119	3,57 (±1,26)	3,20 (±1,65)	0,320*
<b>QUICKI</b>	0,35 (±0,018)	0,36 (±0,032)	0,280	0,33 (±0,012)	0,33 (±0,022)	0,779	0,35 (±0,022)	0,355 (±0,023)	0,322	0,32 (±0,017)	0,33 (±0,021)	0,251
<b>hsCRP (mg/L)</b>	1,37 (±1,77)	1,16 (±1,51)	0,778*	3,44 (±2,44)	3,05 (±1,92)	0,513	0,83 (±0,88)	1,34 (±1,23)	0,433*	3,03 (±2,17)	3,78 (±2,60)	0,125
<b>Ox-LDL (ng/mL)</b>	89,13 (±44,10)	85,07 (±39,76)	0,379	131,87 (±57,77)	126,40 (55,06)	0,336	89,80 (±30,21)	85,67 (27,98)	0,491	114,73 (±53,26)	114,60 (±48,71)	0,987

\*vrijednosti su dobijene Wilcoxon signet rang testom

Tabela 16. Hormonske karakteristike žena sa PCOS stratifikovanih prema ITM na početku i nakon 6 mjeseci terapije sa metforminom (MET) i mioinozitolom (MI)

	MET (n=30)						MI (n=30)					
	BMI≤25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)			BMI>25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)			BMI≤25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)			BMI>25 kg/m <sup>2</sup> (n=15)		
	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p	Prije Th	Poslije Th	p	Poslije Th	after 6 mts	p
<b>FSH (mIU/mL)</b>	6,80 (±1,80)	6,77 (±1,23)	0,960	6,46 (±1,95)	6,34 (±2,71)	0,840	6,00 (±1,31)	6,13 (±2,06)	0,910*	6,85 (±2,69)	6,78 (±2,13)	0,901
<b>LH (mIU/mL)</b>	7,99 (±3,37)	7,58 (±3,49)	0,688	5,83 (±3,31)	4,19 (±2,37)	<b>0,047</b>	9,64 (±6,43)	6,71 (±3,78)	0,088*	7,08 (±3,62)	5,71 (±3,46)	0,061*
<b>Estradiol (pg/mL)</b>	49,97 (±16,12)	49,46 (±18,86)	0,922	71,91 (±36,45)	51,19 (±27,67)	<b>0,047*</b>	80,62 (±63,85)	45,39 (±14,89)	<b>0,047*</b>	60,92 (±57,23)	51,26 (±15,47)	0,532*
<b>17-OHP (ng/mL)</b>	0,93 (±0,51)	0,69 (±0,38)	0,178	1,19 (±1,03)	0,72 (±0,25)	<b>0,041*</b>	1,13 (±0,83)	0,80 (±0,58)	0,163	1,01 (±0,45)	0,86 (±0,53)	0,206
<b>Testosteron (ng/mL)</b>	0,54 (±0,14)	0,49 (±0,14)	0,268	0,51 (±0,20)	0,41 (±0,11)	<b>0,019</b>	0,67 (±0,24)	0,59 (±0,22)	0,105*	0,71 (±0,23)	0,65 (±0,32)	0,551*
<b>SHBG (nmol/L)</b>	59,60 (±31,66)	63,41 (±24,96)	0,315	30,54 (±11,27)	33,43 (±12,99)	0,147	54,30 (±26,27)	60,55 (±35,67)	0,427*	35,63 (±13,82)	39,09 (±15,76)	0,103
<b>FAI</b>	4,41 (±3,94)	2,99 (±1,12)	0,159	7,16 (±4,81)	5,28 (±3,46)	<b>0,008</b>	4,84 (±2,06)	4,545 (±3,97)	0,124*	8,55 (±6,27)	8,45 (±9,59)	0,730*
<b>DHEA-S (µg/dL)</b>	362,18 (±132,80)	357,07 (±100,19)	0,758	377,51 (±123,42)	393,15 (±122,06)	0,335	366,02 (±139,56)	371,75 (±138,49)	0,746	335,91 (±146,91)	377,39 (±179,21)	0,085
<b>AMH (ng/mL)</b>	9,60 (±7,25)	8,57 (±5,71)	<b>0,017*</b>	5,81 (±2,67)	5,20 (±2,36)	0,184	7,95 (±3,54)	8,51 (±5,19)	0,527	7,49 (±3,65)	7,32 (±3,80)	0,752

\*vrijednosti su dobijene Wilcoxon signet rang testom

## **5.6. Poređenje tretmana metforminom i mioinozitolom tokom vremena**

Razlika između tretmana testirana primjenom dvostrukom ANOVA-om ponovljenih mjerena (*Two-Way Repeated Measures ANOVA, TW RMA*) sa dva promjenjiva faktora (terapija i vrijeme) je prikazana u Tabeli 17.

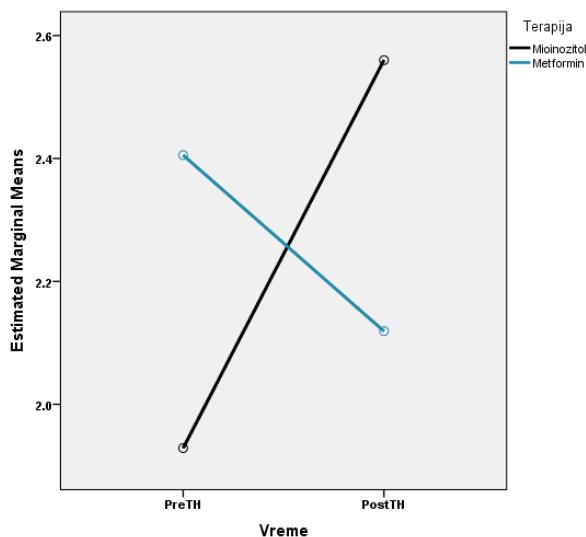
Tabela 17. Poređenje terapije sa MET i MI u odnosu na kliničke, metaboličke i hormonske karakteristike žena sa PCOS

	Outliers	Shapiro-Wilk	Interakcija tretman x vrijeme			Glavni efekat tretmana			Glavni efekat vremena	
			F	p	$\eta^2$	F	p	difference	F	p
<b>Tjelesna masa (kg)</b>		Normal	0,125	0,727	0,004	3,392	0,076	4,758	9,991	<b>0,004</b>
<b>OS (cm)</b>		Normal	0,082	0,777	0,003	0,708	0,407	1,950	17,790	<b>&lt;0,001</b>
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>		Normal	0,011	0,917	<0,001	0,962	0,335	0,712	10,951	<b>0,003</b>
<b>Masna masa (kg)</b>		Mixed	0,437	0,514	0,015	0,674	0,419	1,140	13,529	<b>0,001</b>
<b>Adiponektin (μg/mL)</b>		Mixed	0,231	0,634	0,008	0,901	0,350	-0,883	6,060	<b>0,020</b>
<b>hsCRP (mg/l)</b>		Not	4,466	<b>0,043</b>	0,133	0,002	0,969	-0,018	0,520	0,447
<b>oxLDL (ng/ml)</b>		Mixed	0,196	0,661	0,007	0,449	0,508	-6,917	1,251	0,272
<b>SKP (mmHg)</b>		Mixed	3,487	0,072	0,107	1,659	0,208	2,617	1,832	0,186
<b>DKP (mmHg)</b>		Mixed	4,841	<b>0,036</b>	0,143	6,266	<b>0,018</b>	3,483	1,145	0,293
<b>Holesterol (mmol/l)</b>	1	Normal	0,232	0,633	0,008	2,161	0,151	0,276	17,887	<b>&lt;0,001</b>
<b>LDL (mmol/l)</b>		Normal	0,004	0,948	<0,001	3,585	0,068	0,326	2,886	0,100
<b>HDL (mmol/l)</b>		Mixed	0,598	0,446	0,020	1,662	0,208	-0,081	0,003	0,954
<b>TG (mmol/l)</b>	2	Not-normal	0,029	0,866	0,001	0,042	0,839	-0,024	2,632	0,116
<b>Glukoza našte (mmol/L)</b>		Mixed	0,005	0,945	<0,001	0,559	0,461	-0,082	13,750	<b>0,001</b>
<b>Glukoza 120' (mmol/L)</b>	1	Mixed	0,464	0,501	0,016	5,072	<b>0,032</b>	-0,720	0,742	0,396
<b>AUC<sub>Glukoze</sub></b>		Mixed	3,519	0,071	0,108	2,739	0,109	-0,985	2,175	0,151
<b>Insulin našte (μIU/mL)</b>		Mixed	0,667	0,421	0,022	0,621	0,437	0,792	0,859	0,362

<b>Insulin120' (μIU/mL)</b>		Mixed	0,924	0,344	0,031	0,001	0,973	0,393	0,539	0,449
<b>AUC<sub>Insulin</sub></b>	1	Mixed	1,408	0,245	0,046	0,737	0,398	16,756	0,646	0,428
<b>HOMA-IR</b>		Mixed	0,709	0,407	0,024	0,595	0,447	0,235	2,268	0,143
<b>QUICKI</b>	1	Mixed	0,011	0,918	<0,001	0,066	0,800	-0,006	3,592	0,068
<b>Testosteron (ng/mL)</b>	2	Mixed	0,043	0,837	0,001	11,506	<b>0,002</b>	0,166	6,719	<b>0,015</b>
<b>SHBG (nmol/L)</b>	2	Not-normal	0,194	0,663	0,007	0,011	0,917	-4,102	7,085	<b>0,013</b>
<b>FAI</b>	3	Not-normal	2,754	0,108	0,087	1,665	0,207	1,636	4,084	0,053
<b>DHEA-S (μg/dL)</b>		Normal	0,900	0,350	0,030	0,079	0,781	-9,712	2,877	1,01
<b>17-OHP (ng/mL)</b>	1	Mixed	0,375	0,545	0,013	0,236	0,631	0,067	8,166	<b>0,008</b>
<b>LH (mIU/mL)</b>		Mixed	1,033	0,318	0,034	1,071	0,309	0,886	9,630	<b>0,004</b>
<b>FSH (mIU/mL)</b>	1	Mixed	0,031	0,861	0,001	0,119	0,732	-0,150	0,007	0,935
<b>Estradiol (pg/mL)</b>	3	Mixed	0,894	0,352	0,030	0,389	0,537	16,526	6,890	<b>0,014</b>
<b>AMH (ng/mL)</b>	2	Mixed	2,118	0,156	0,068	0,251	0,620	0,521	1,194	0,284
<b>ACTH (pg/mL)</b>	1	Not-normal	0,00	0,993	<0,001	0,214	0,647	1,607	0,011	0,917
<b>Kortizol (nmol/L)</b>		Normal	1,225	0,278	0,041	0,007	0,936	-2,624	2,314	0,139
<b>Prolaktin (μIU/mL)</b>	2	Mixed	0,600	0,445	0,020	0,004	0,948	2,586	1,451	0,238
<b>FT4 (pmol/L)</b>		Mixed	0,367	0,549	0,013	0,023	0,881	-0,049	2,714	0,086
<b>TSH (μIU/mL)</b>		Normal	0,979	0,331	0,033	0,002	0,968	0,011	1,410	0,245

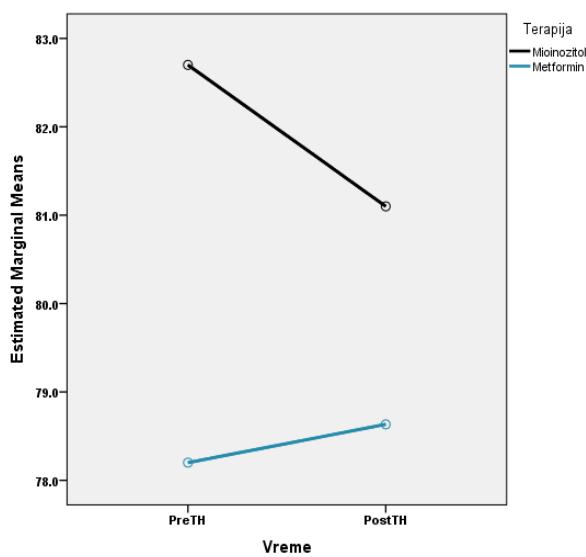
### 5.6.1. Interakcija lijekova u odnosu na prije i poslije terapije (Interakcija tretman x vrijeme)

Postoji statistički značajna interakcija terapijskih linija, pre- i posterapijski, na hsCRP ( $F(1,29)=4,466$ ;  $p=0,043$ ;  $\eta_p^2=0,133$ ). Skok u predviđenim srednjim vrijednostima hsCRP u mioinozitolnoj grupi je pre- i posterapijski značajan (sa 1,929 na 2,560), dok je u metforminskoj zabilježen pad vrijednosti (sa 2,405 na 2,119) (Slika 11).



Slika 11. Proračuni srednjih vrijednosti hsCRP u odnosu na terapiju i vrijeme

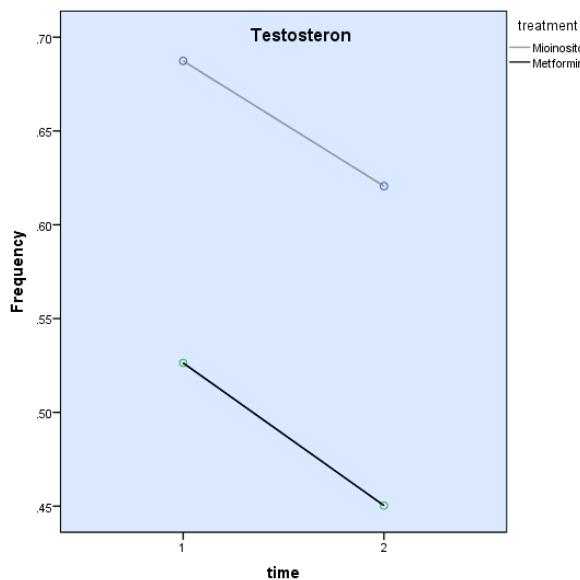
Postoji statistički značajna interakcija lijek-pre-postterapijska vrijednost dijastolnog krvnog pritiska ( $F(1,29)=4,841$ ;  $p=0,036$ ;  $\eta_p^2=0,143$ ). Dijastolni pritisak je opadao u mioinozitolnoj grupi posterapijski (sa 82,70 na 81,10), ali ne i u metforminskoj grupi (78,20 na 78,63), što se vidi i u dijagramu (Slika 12).



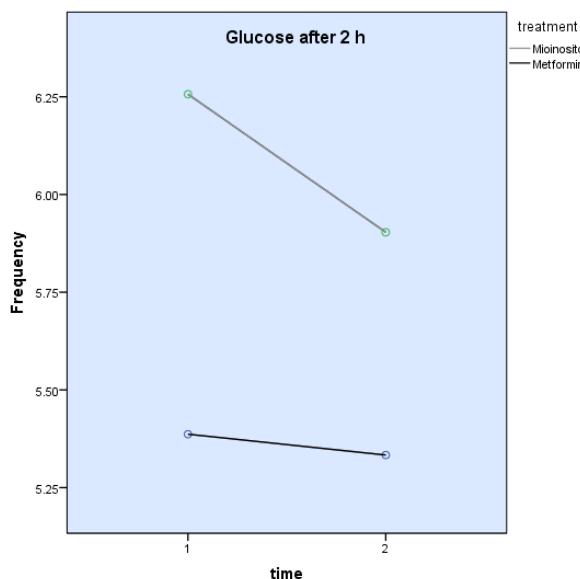
Slika 12. Proračuni srednjih vrijednosti dijastolnog pritiska u odnosu na terapiju i vrijeme

### 5.6.2. Glavni efekat tretmana

Tamo gdje nije nađena značajna interakcija terapijskih linije pre- i postterapijski izračunat je glavni efekat tretmana. Postoji visoko statistički značajni efekat ukupne terapije na koncentraciju testosterona. Testosteron je bio za 0,166 ng/mL viši u grupi liječenoj sa MI u poređenju sa grupom liječenom MET ( $F(1,29)=11,506$ ;  $p=0,002$ ;  $\eta_p^2=0,284$ ). U inozitolskoj grupi izračunata srednja vrijednost serumskog testosterona posterapijski pada (sa 0,687 na 0,621), a u metforminskoj takođe (sa 0,526 na 0,450) (Slika 13).



Slika 13. Proračuni srednjih vrijednosti testosterona u odnosu na terapiju i vrijeme

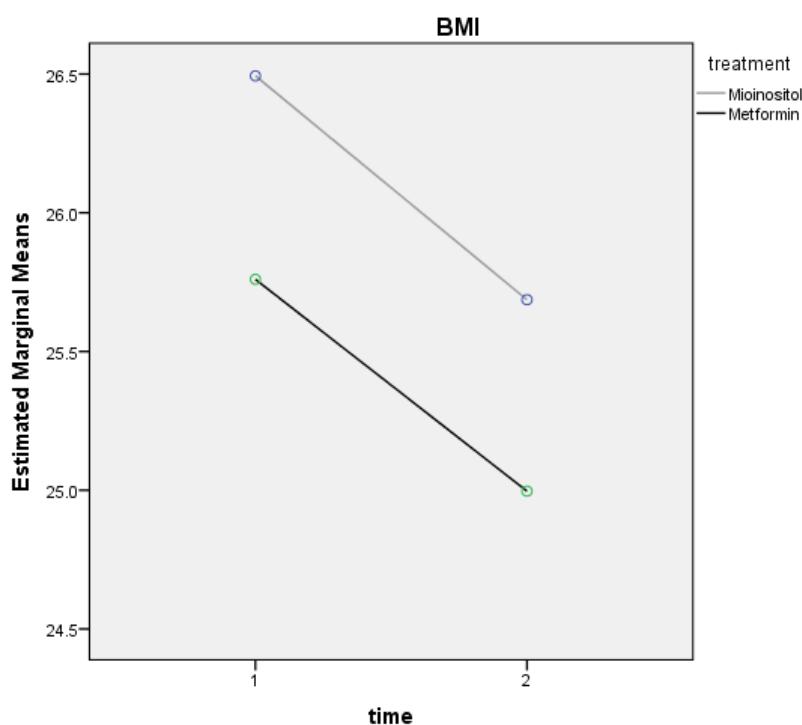


Slika 14. Proračuni srednjih vrijednosti 2h glukoze u OGTT u odnosu na terapiju i vrijeme

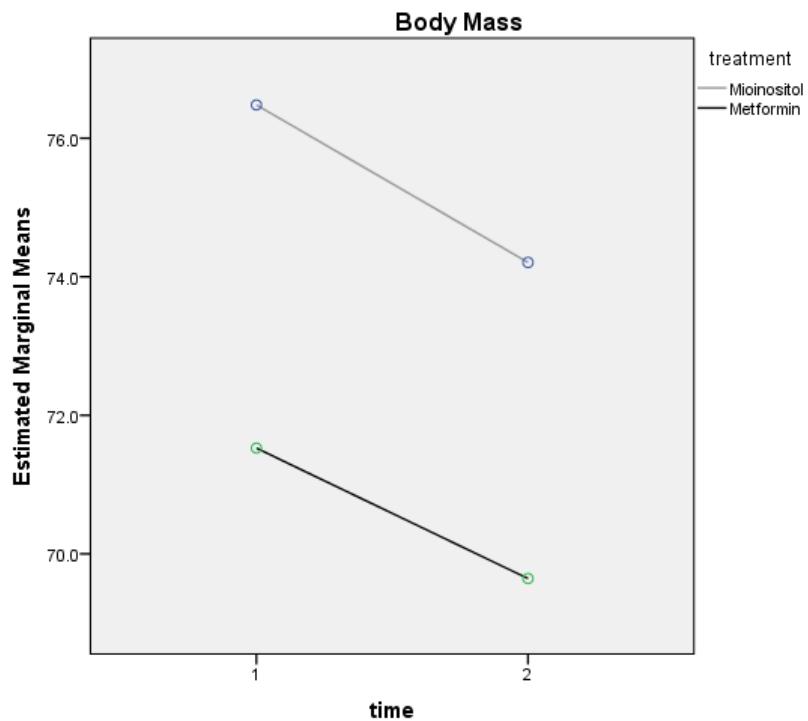
Glavni efekat tretmana pokazao je statistički značajnu razliku u koncentraciji glukoze u 120 min. OGTT ( $F(1,29)=5,072$ ;  $p=0,032$ ). U grupi pacijentica liječenih sa MET srednja koncentracija glukoze bila je za 0,720 mmol/L niža u odnosu na grupu liječenu sa MI (Slika 14). Tendenciju značajnosti su imali tjelesna masa ( $F=3,392$ ;  $p=0,076$ ) i LDL ( $F=3,585$ ;  $p=0,068$ ).

### 5.6.3. Glavni efekat vremena

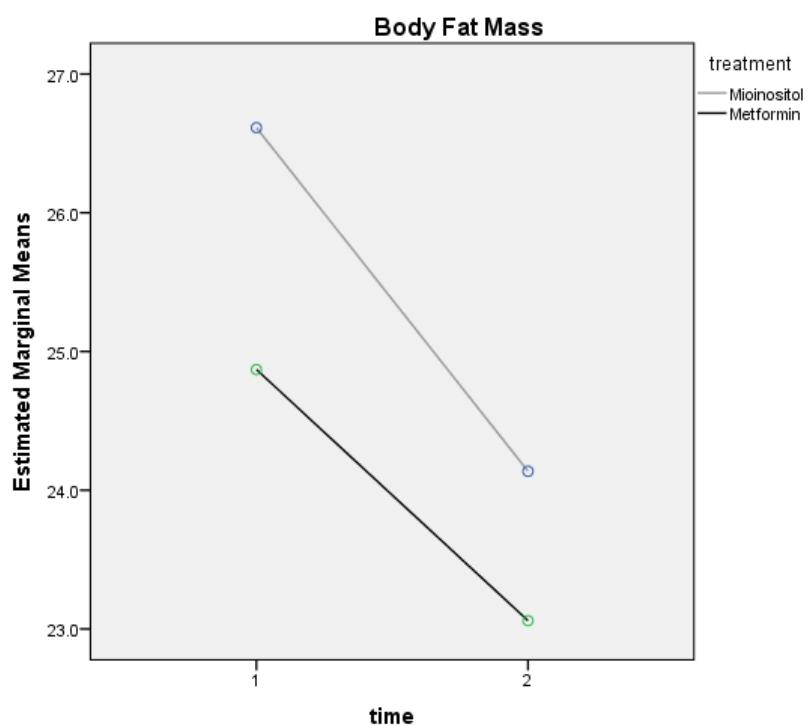
Postoji statistički značajni efekat vremena (pre- i posterapijskih vrijednosti) na ITM ( $F(1,29)=10,951$ ;  $p=0,003$ ;  $\eta_p^2=0,274$ ), tjelesnu masu ( $F=9,991$ ;  $p=0,004$ ), masnu masu ( $F=13,529$ ;  $P=0,001$ ), OS ( $F=17,790$ ;  $p<0,001$ ), adiponektin ( $F=6,060$ ;  $p=0,020$ ), holesterol ( $F=17,887$ ;  $p<0,001$ ), GUK našte ( $F=13,750$ ;  $p=0,001$ ), testosteron ( $F=6,719$ ;  $p=0,015$ ), SHBG ( $F=7,085$ ;  $p=0,013$ ), 17OH-progesteron ( $F=8,166$ ;  $p=0,008$ ), LH ( $F=9,630$ ;  $p=0,004$ ) i estradiol ( $F=6,890$ ;  $p=0,014$ ) (Slika 15-25). Tendencija značajnosti za efekat vremena je opažena za FAI ( $F=4,084$ ;  $p=0,053$ ) (Slika 26).



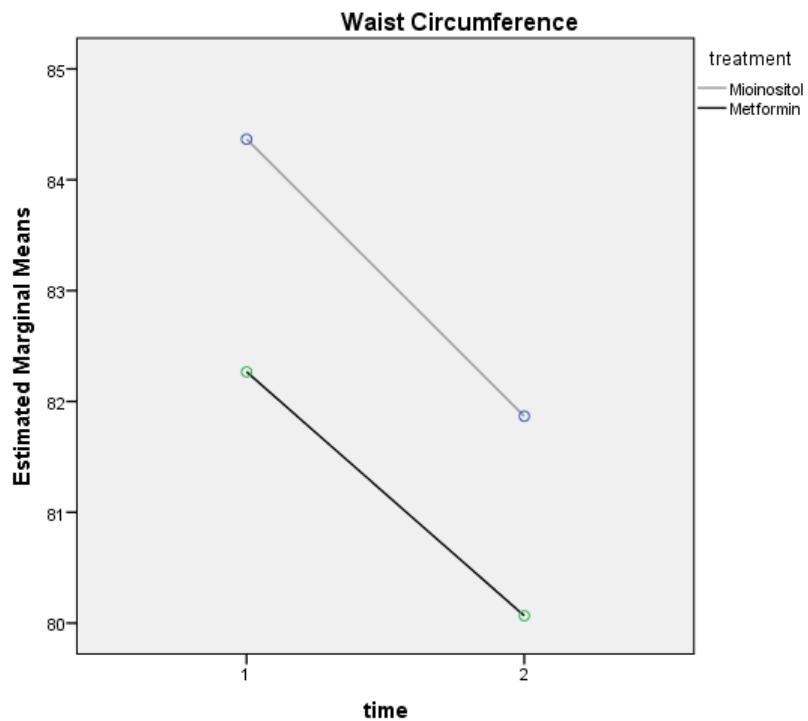
Slika 15. Proračuni srednjih vrijednosti ITM u odnosu na terapiju i vrijeme



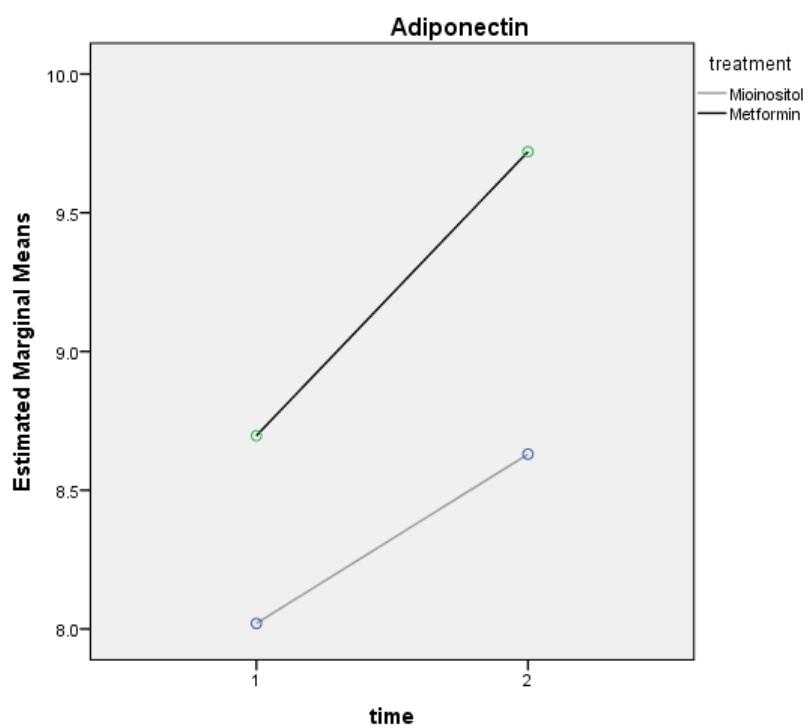
Slika 16. Proračuni srednjih vrijednosti tjelesne mase u odnosu na terapiju i vrijeme



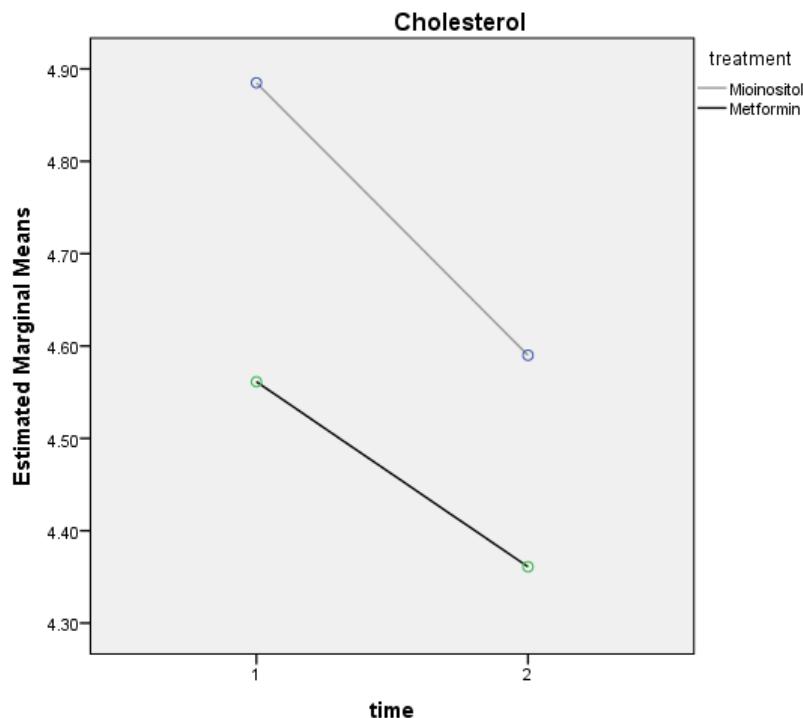
Slika 17. Proračuni srednjih vrijednosti masne mase u odnosu na terapiju i vrijeme



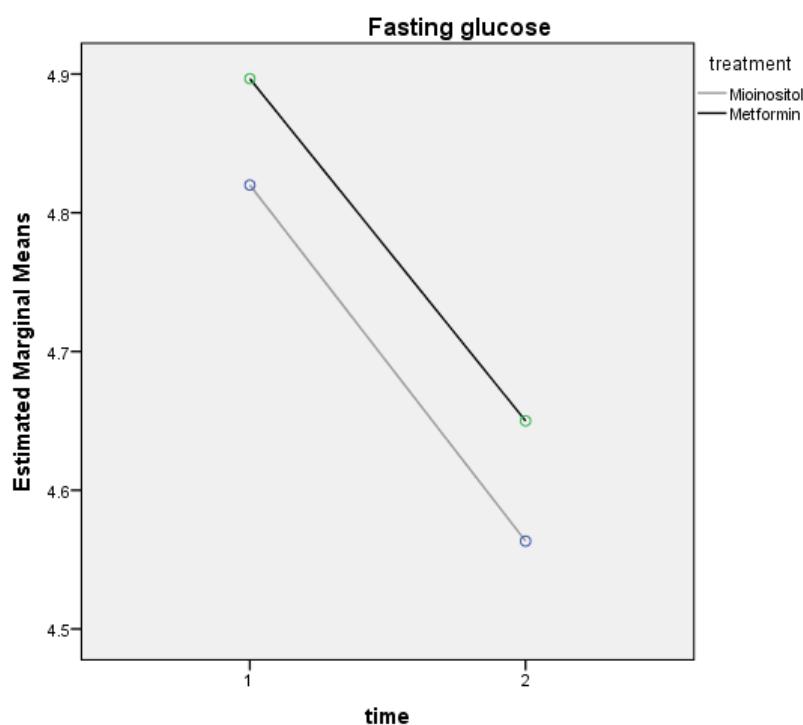
Slika 18. Proračuni srednjih vrijednosti obima struka u odnosu na terapiju i vrijeme



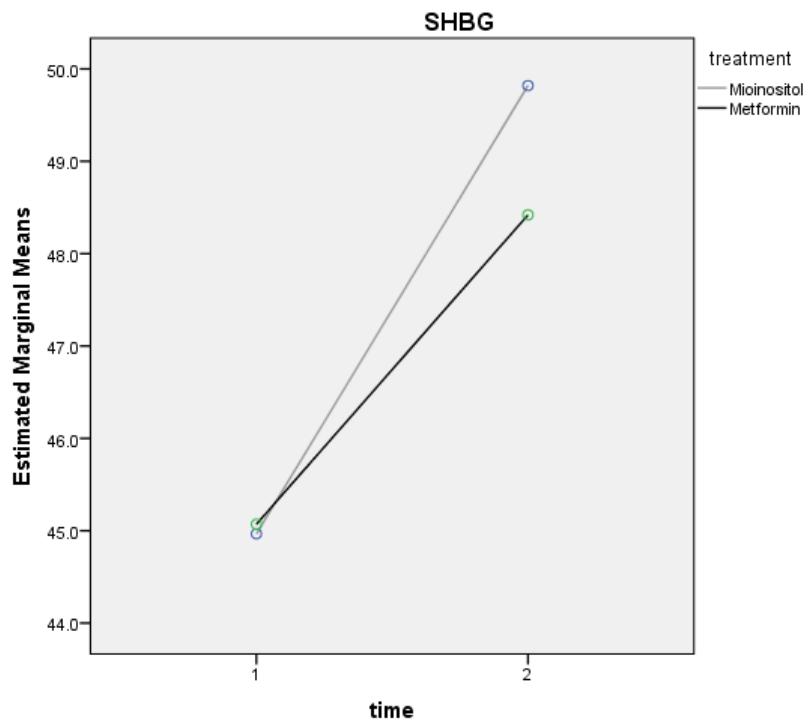
Slika 19. Proračuni srednjih vrijednosti adiponektina u odnosu na terapiju i vrijeme



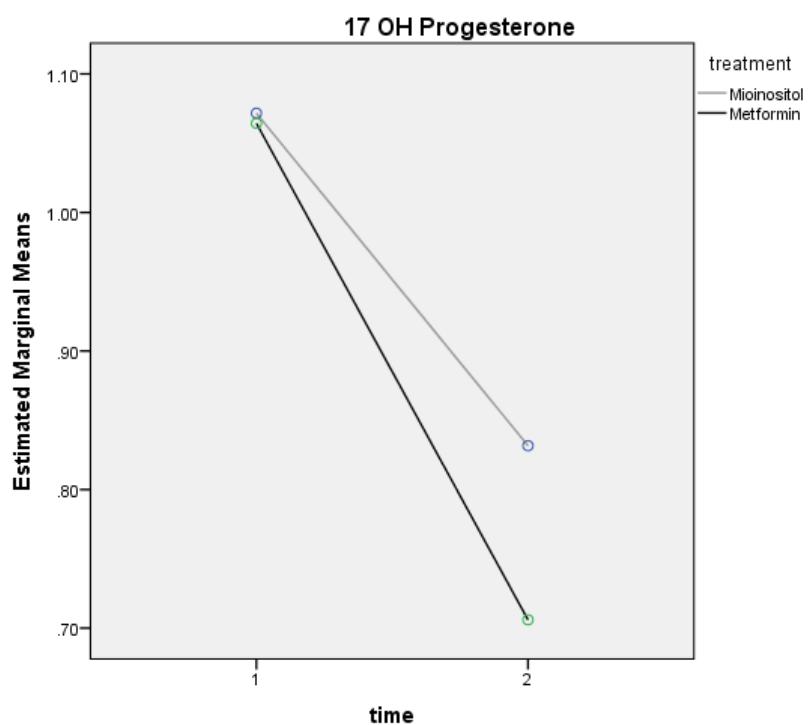
Slika 20. Proračuni srednjih vrijednosti holesterola u odnosu na terapiju i vrijeme



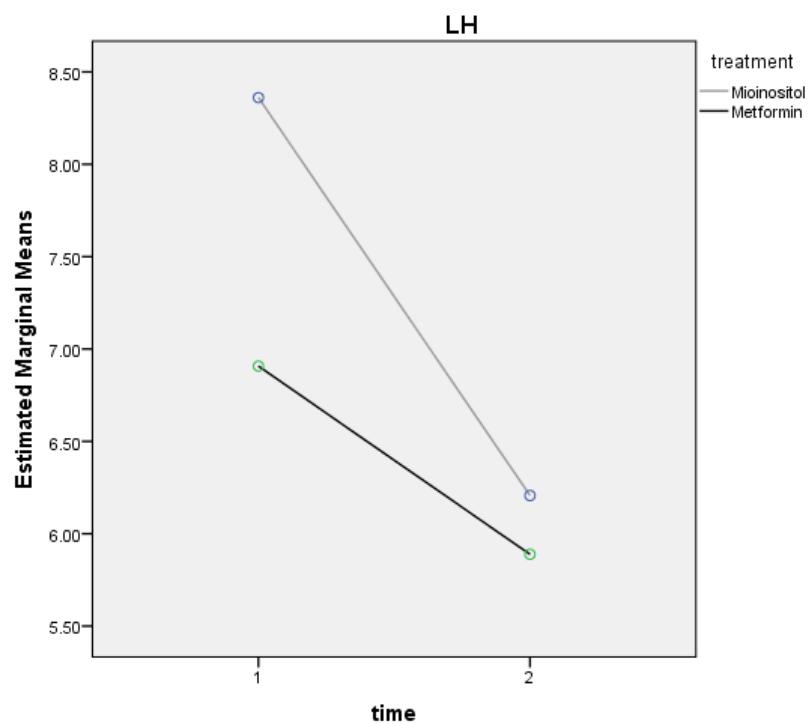
Slika 21. Proračuni srednjih vrijednosti glukoze našte u odnosu na terapiju i vrijeme



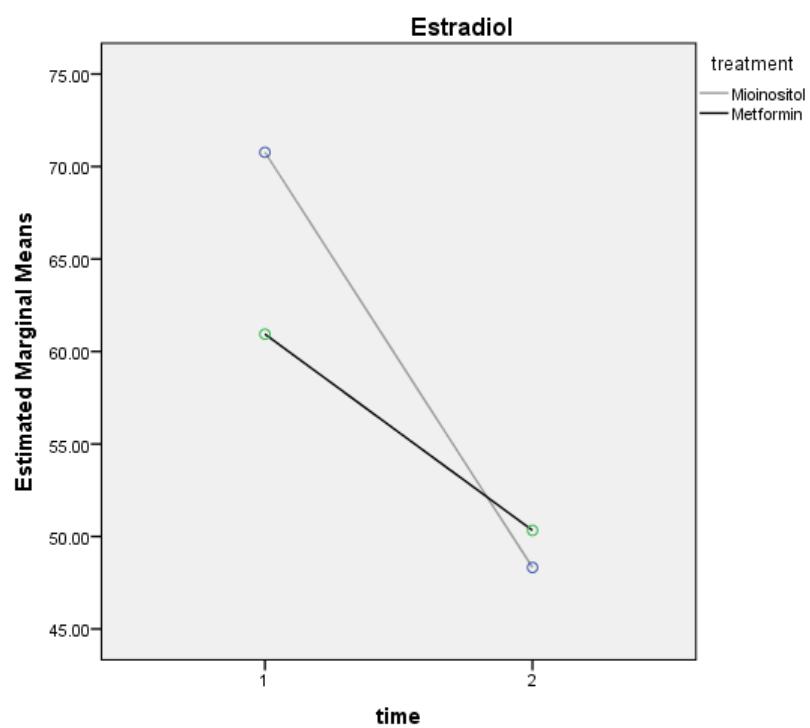
Slika 22. Proračuni srednjih vrijednosti SHBG u odnosu na terapiju i vrijeme



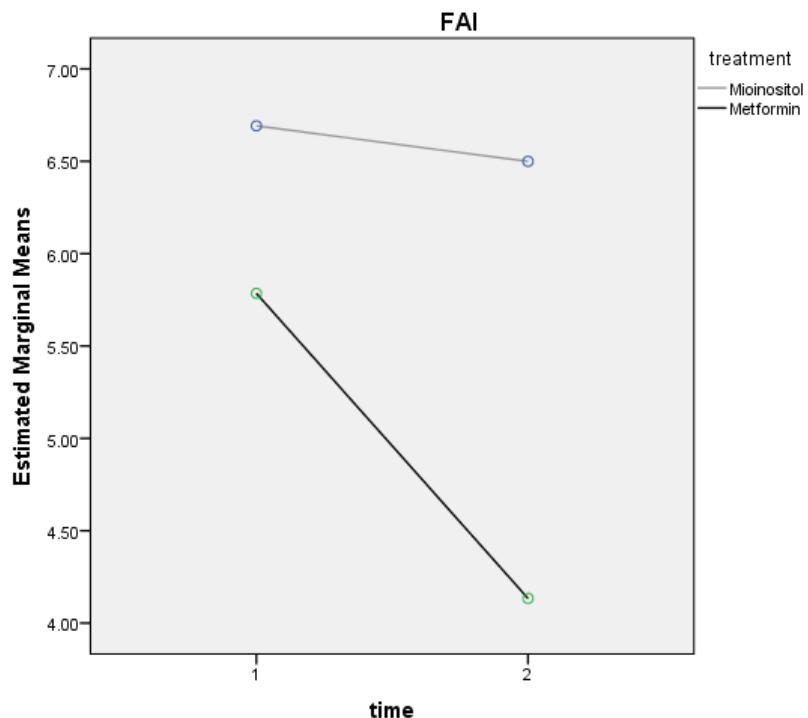
Slika 23. Proračuni srednjih vrijednosti 17-OHP u odnosu na terapiju i vrijeme



Slika 24. Proračuni srednjih vrijednosti LH u odnosu na terapiju i vrijeme



Slika 25. Proračuni srednjih vrijednosti estradiola u odnosu na terapiju i vrijeme



Slika 26. Proračuni srednjih vrijednosti FAI u odnosu na terapiju i vrijeme

## 6. DISKUSIJA

Žene sa PCOS imaju veću učestalost gojaznosti, metaboličkih poremećaja i funkcionalnih promjena u masnom tkivu. Naši rezultati pokazuju da postoje važne razlike u metaboličkim parametrima mjeranim kod žena sa i bez PCOS, posebno kad se uzme u obzir ITM.

Insulinska rezistencija i hiperinsulinemija su faktori koji igraju važnu ulogu u patogenezi PCOS. U ovom istraživanju, kao i u prethodnim, nađena je povećana insulinska rezistencija u grupi žena sa PCOS izražena indeksima HOMA, QUICKI i AUC insulin<sup>[158]</sup>. Ograničenja određivanja HOMAindeksa baziraju se na prethodnim opažanjima da su kod mnogih mladih žena metabolički poremećaji prisutni tokom stimulacije, ali ne i u stanju našte. Kod mlađih pacijentica sa PCOS HOMA indeks ne otkriva oko 50% slučajeva insulinske rezistencije u poređenju sa OGTT testom sa određivanjem AUC insulin<sup>[159]</sup>.

U našem istraživanju, serumski nivo testosterona i FAI je bio viši kod žena sa PCOS. Insulinska rezistencija i hiperinsulinemija mogu uticati na hormonsku regulaciju na način da hiperinsulinemija povećava sintezu androgena direktnim vezivanjem na receptore insulina ili IGF-1 receptore na jajniku, ili stimulišući oslobođanje LH<sup>[160]</sup>. Hiperandrogenizam nastaje zbog povećanja LH i sniženog ili normalnog FSH, što je nađeno i kod naših pacijentica sa PCOS. Zbog porasta LH i estrogena dolazi do inhibicije lučenja FSH, uslijed čega nastaje hiperplazija tekaćelija i posljedična hiperandrogenemija koja se klinički prezentuje hirzutizmom. U našoj studiji hirzutizam je korišten kao jedan od kliničkih znakova za dijagnozu hirzutizma.

Hiperinsulinemija takođe povećava bioraspoloživost androgena smanjenjem sinteze SHBG i sniženjem nivoa SHBG u serumu, prisutnog i kod naših žena sa PCOS<sup>[161]</sup>. S druge strane, povećanje testosterona i drugih androgena može uticati na mehanizme uključene u modulaciju insulinskih receptora i doprinijeti povećanoj insulinskoj rezistenciji<sup>[162]</sup>.

Osim ovarijalnog hiperandrogenizma, takođe je nađen viši nivo DHEAS, koji je odraz viška adrenalnih androgena prisutnih kod velikog broja žena sa PCOS<sup>[11]</sup>.

Po nekim studijama, insulinska rezistencija i povećana produkcija androgena mogu uzrokovati hipotireoidizam u PCOS<sup>[163]</sup>. U našoj studiji nije bilo značajne razlike u serumskom nivou TSH i hormona fT4.

Takođe je ranije sugerisano da pacijenti sa PCOS imaju relativan nedostatak dopamina, koji može dovesti do poremećene pulsatilnosti GnRH, povećanja sekrecije LH i tendencije ka povećanju nivoa prolaktina. Osim toga, hiperandrogenemija i relativno visok nivo estrogena može stimulisati sekreciju prolaktina<sup>[164]</sup>. Međutim, većina studija, uključujući i našu, nije potvrdila ovu hipotezu, i danas se smatra da pacijentice sa PCOS nemaju povećan nivo prolaktina<sup>[165]</sup>.

Jedna od značajnih odlika PCOS, povezana sa insulinskom rezistencijom i hiperandrogenizmom je snižen nivo SHBG<sup>[166]</sup>. U našem istraživanju su nađene značajno niže vrijednosti SHBG kod pacijentica sa PCOS u poređenju sa kontrolnom grupom, a s tim u vezi i više vrijednosti FAI, slično rezultatima drugih autora<sup>[167]</sup>.

U našem radu nađene su povišene vrijednosti AMH kod pacijentica sa PCOS, što je u skladu sa prethodnim radovima koji su pokazali 2,5-3 puta viši nivo AMH kod žena sa PCOS u odnosu na žene bez PCOS<sup>[168]</sup>. Mogućnost korištenja AMH kao neinvazivnog skrininga testa u dijagnozi PCOS ispitivana je u brojnim studijama. Yetim i saradnici su izračunali *cut-off* vrijednost AMH  $>6,10 \text{ ng/mL}$  sa senzitivnošću od 92,3% i specifičnošću od 81,1% u dijagnostici PCOS kod djevojaka starosti od 15–20 godina<sup>[169]</sup>. U studiji na 102 adolescenta sa PCOS predložena je granična vrijednost AMH  $>7,03 \text{ ng/mL}$  sa 50,0% senzitivnošću i 70,8% specifičnošću<sup>[170]</sup>. Prema našim rezultatima, nivo AMH  $>4,69 \text{ ng/mL}$  sa 75% senzitivnošću i 75% specifičnošću može biti jedan od perspektivnih dijagnostičkih testova za PCOS. Nešto niži *cut-off* kod naših pacijentica može se objasniti većom starošću pacijentica, s obzirom da nivo AMH opada sa starošću i porastom ITM.

S druge strane, korištenje samo nivoa AMH ne pruža dovoljno visoku tačnost u dijagnozi PCOS. Prema našim rezultatima, kombinovana upotreba hormonskih parametara (AMH, FAI, SHBG, testosteron, DHEAS, LH, FSH, estradiol) je značajno bolja u predikciji PCOS od pojedinačne upotrebe ovih parametara. Kao najznačajniji pojedinačni prediktor PCOS, ukupni testosteron je snažan prediktor prisustva hiperandrogenizma u PCOS i diferencijacije PCOS pacijenata od zdravih kontrola. Mi smo našli visoku prediktivnu vrijednost testosterona od 94% sa senzitivnošću od 85,0% i specifičnošću od 96,7%, u skladu s rezultatima drugih studija<sup>[171]</sup>. AMH dopunjaje određivanje androgena u biohemiskoj procjeni PCOS i može se u perspektivi razmatrati kao dodatni kriterijum postojećim kriterijima za PCOS.

Još jedna važna posljedica razvoja IR kod pacijenata sa PCOS je snižen nivo adiponektina u serumu<sup>[172]</sup>, što je pokazano i u našoj studiji, i potvrđeno negativnom korelacijom adiponektina sa indeksima tjelesnog sastava, markerima insulinske senzitivnosti i hiperandrogenizma. Međutim, drugi autori nisu potvrdili hipoadiponektinemiju kod žena sa PCOS. Oni su našli sličnu koncentraciju adiponektina kod žena sa PCOS i zdravih kontrola istog ITM, što upućuje na potencijalnu ulogu gojaznosti u određivanju nivoa adiponektina<sup>[173]</sup>. Slično tome, u našoj studiji kod gojaznih pacijentica sa PCOS je nađen niži nivo adiponektina u poređenju sa kontrolama. Ovo može značiti da bi gojaznost, a ne IR mogla biti odlučujući faktor za nivo adiponektina, što dodatno potvrđuje inverzna povezanost ITM i OS sa nivoom adiponektina kod naših žena sa PCOS. Nadalje, ITM je bio značajan prediktor promjena nivoa adiponektina, sa izračunatim sniženjem od 0,328 mcg/mL za svaki 1 kg/m<sup>2</sup> porasta ITM. Ipak, ITM se ne treba smatrati jedinim pokazateljem količine masnog tkiva kod ovih pacijentica. Žene sa PCOS su više sklone razvoju centripetalne gojaznosti, za koju se smatra da prethodi razvoju metaboličkih poremećaja. Ovo potvrđuje i značajna negativna povezanost serumskog adiponektina sa OS, odnosom struk-kuk i masom tjelesne masti u našoj studiji.

Takođe se smatra da androgeni direktno utiču na nivo adiponektina, jer inhibišu diferencijaciju adipocita i promovišu njihov rast<sup>[174]</sup>. Ovo doprinosi ekspanziji masnog tkiva u potkožnom tkivu žena sa PCOS, što dovodi do smanjene produkcije i sekrecije adiponektina<sup>[175]</sup>. Nađeno je da ITM i FAI predstavljaju nezavisne prediktore nivoa adiponektina. Sveukupno, rezultati naše studije ukazuju na ulogu viška androgena u nastanku gojaznosti i disfunkcije masnog tkiva kod žena sa PCOS, što je sugerisano i od strane drugih autora i potvrđeno u molekularnim studijama na životinjskim modelima PCOS<sup>[176,177]</sup>.

Abdominalna gojaznost je klinički prediktor metaboličkih poremećaja koji nastaju u kasnijem periodu života žena sa PCOS i kliničkih markera KVB kao što su hipertenzija i poremećaj lipida u krvi.

Određivanje arterijskog krvnog pritiska predstavlja surogat marker prisustva KVB. Još uvijek je nejasno da li žene sa PCOS imaju veću prevalencu hipertenzije u odnosu na reproduktivno zdrave žene, jer u većini studija nije vršena kontrola gojaznosti<sup>[86]</sup>. U našoj studiji, gdje su pacijentice mečovane prema ITM, nije bilo razlike u učestalosti hipertenzije između žena sa PCOS i zdravih kontrola. Prema tome, gojaznost i insulinska rezistencija su predisponirajući faktori u nastanku arterijske hipertenzije kod žena sa PCOS, što čini gojaznost glavnom vezom između PCOS i hipertenzije<sup>[178]</sup>.

Nije bilo razlike u prevalenci lipidnih poremećaja između grupe žena sa PCOS i zdravih kontrola. Iako je dislipidemija najčešća metabolička abnormalnost u PCOS, tip i raširenost lipidnih poremećaja može varirati<sup>[91]</sup>. Etničke karakteristike populacije su važne odrednice metaboličkih poremećaja u PCOS. Tako je u studiji na Sardiniji koja je poredila žene sa PCOS i zdrave kontrole sličnog ITM pokazano da je ITM, a ne PCOS glavna determinanta lipidnih poremećaja<sup>[179]</sup>. U studiji koja je analizirala lipidni profil žena sa PCOS takođe nije nađena razlika u koncentraciji LDL, HDL i Tg u odnosu na zdrave žene, ali je nađena veća količina malih gustih LDL čestica, kao aterogene forme LDL<sup>[180]</sup>. U našoj studiji je nađena korelacija adiponektina sa HDL-holesterolom. Adiponektin utiče na nivo plazmatskih lipoproteina smanjenjem nivoa i aktivnosti ključnih enzima (lipoproteinske lipaze i jetrene lipaze) odgovornih za katabolizam trigliceridima bogatih lipoproteina i HDL, što potvrđuje centralnu ulogu gojaznosti u razvoju metaboličkog sindroma u budućnosti<sup>[181]</sup>.

Metabolička transformacija LDL holesterola povećanom oksidacijom vodi većem aterogenom potencijalu modifikovanih LDL čestica. Poznato je da pacijenti sa koronarnom bolešću imaju viši nivo ox-LDL, što čini ox-LDL potencijalnim novim markerom ateroskleroze. Nađeno je da je ox-LDL povećan i kod normalno uhranjenih i kod gojaznih žena sa PCOS, što može biti marker poremećaja lipidnog metabolizma i rane ateroskleroze kod ovih žena<sup>[85]</sup>. U našoj studiji nivo ox-LDL kod žena sa PCOS je bilo sličan zdravim ženama, slično rezultatima drugih autora<sup>[182]</sup>, moguće zbog nedovoljnog broja ispitanika, ili dominantne uloge gojaznosti u određivanju nivoa serumskog ox-LDL<sup>[183]</sup>.

Sve više podataka ukazuje da disfunkcija masnog tkiva indukuje hroničnu inflamaciju niskog stepena koja može dovesti do metaboličkih i reproduktivnih poremećaja u PCOS<sup>[184]</sup>. U prilog tome ide i negativna korelacija adiponektina sa nivoom serumskog hsCRP u našoj studiji. Ipak, u našoj studiji nije nađena značajna razlika u nivou hsCRP kod žena sa PCOS i zdravih kontrola, slično studiji *Møhlig* i autora, koji su našli da je gojaznost glavni faktor, kojim se objašnjava 24% nivoa CRP kod žena sa PCOS. Oni su takođe saopštili da nivo CRP nije povezan sa nivoom androgena<sup>[185]</sup>.

Saznanje da hiperinsulinemija i insulinska rezistencija mogu imati glavnu ulogu u patofiziologiji ovarijalne steroidogeneze u PCOS dovela je do uvođenja terapije insulinskim senzitajzerima u terapiju simptoma vezanih za PCOS. Mi smo analizirali uticaj terapije insulinskim senzitajzerima na kliničke i biohemijske parametre kod žena sa PCOS u odnosu na njihov ITM.

Naši rezultati su u skladu s rezultatima drugih studija, koji upućuju na sposobnost metformina da redukuje koncentraciju serumskih androgena kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS<sup>[186,187]</sup>. Metformin snižava nivo testosterona putem smanjenja bazne i glukozom stimulisane sekrecije insulina i posljedičnog sniženja aktivnosti citohroma P450c17 u jajniku<sup>[188]</sup>. Međutim, smanjenje nivoa testosterona u našoj studiji se ne može objasniti sniženjem nivoa insulina, jer se indeksi insulinske senzitivnosti nisu promijenili na terapiji metforminom bez obzira na ITM. Prepostavljeni mehanizam sniženja testosterona je direktno inhibitorno dejstvo metformina na ovarijalnu steroidogenezu dejstvom na 3β-hidroksisteroid dehidrogenazu tipa 2 (HSD3B2) i CYP17-liazu putem inhibicije mitohondrijalnog kompleksa I<sup>[107]</sup>. Prethodno je takođe pokazana supresija adrenalne steroidogeneze metforminom uzrokovana značajnom redukcijom nivoa steroida stimulisanih sa ACTH i posljedičnim smanjenjem aktivnosti C17 hidroksilaze<sup>[189]</sup>. Inhibitorni efekat metformina na sekreciju ACTH nastaje zbog smanjene ekspresije pro-opiomelanokortina (POMC) nakon metforminom indukovane AMPK/liver X receptor α (LXRα) fosforilacije u hipofizi<sup>[190]</sup>. Međutim, u našoj studiji nije nađen značajan efekat na smanjenje nivoa DHEAS tokom šestomjesečnog tretmana. Naši rezultati su u skladu sa literaturom, gdje je pokazano smanjenje enzimske aktivnosti steroidnih enzima i u jajnicima i nadbubrežima tokom dugotrajnog liječenja metforminom, ali bez značajnih promjena u bazalnom nivou adrenalnih steroida i insulinskoj senzitivnosti<sup>[191]</sup>. Osim efekta na biohemski hiperandrogenizam, terapija metforminom je značajno popravila FG-scor kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih žena sa PCOS, slično rezultatima drugih autora<sup>[187,192]</sup>. Ovaj efekat metformina na redukciju hirzutizma je najvjerojatnije ostvaren smanjenjem hiperandrogenemije, a manje redukcijom cirkulišućeg nivoa insulina. Androgeni stimulišu rast terminalnih dlaka u područjima kože koji su senzitivni na efekte ovih steroida, a insulin je takođe anabolički faktor rasta dlake, te supresija cirkulišućeg nivoa insulina može smanjiti rast terminalne dlake.

Terapija metforminom kod eutiroidnih pacijentica sa PCOS nije dovela do značajne promjene serumskog TSH i fT4, slično ranijim studijama, gdje je terapija metforminom dovela do značajne redukcije TSH samo kod hipotiroidnih pacijenata sa PCOS, putem različitih mehanizama kao što su porast centralnog dopaminergičnog tonusa, promjena afiniteta ili ekspresije receptora za tiroidne hormone ili efekta na regulaciju TSH<sup>[193]</sup>.

Mali broj studija je pokazao efekte metformina na inhibiciju stimulisane sekrecije prolaktina modifikacijom endogenog dopaminergičnog tonusa kod žena sa PCOS. Većina

studija, uključujući i našu, nije pokazala efekte metformina na nivo prolaktina nakon 6-mjesečnog tretmana<sup>[194]</sup>.

Uticaj metformina na serumski nivo AMH nije do kraja razjašnjen. Nekoliko studija je pokazalo smanjenje AMH kod visoko insulin –rezistentnih žena sa PCOS<sup>[195,196]</sup>. U našoj studiji smo registrovali smanjenje nivoa AMH tokom terapije metforminom kod normalno uhranjenih žena sa PCOS. Ovaj efekat je nezavisan od njegovih efekata na insulinsku senzitivnost i dovodi do smanjenja volumena jajnika i odjeljka strome kod normalno uhranjenih žena sa PCOS, a govori u prilog direktnog dejstva metformina na vijabilnost granuloza ćelija i ekspresiju fosforilisanog AKT i mitogen aktiviranog MAPK proteina u humanim granuloza ćelijama, i u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja<sup>[197,198]</sup>.

U našem istraživanju nije došlo do smanjenja glikemije naše i nivoa insulina, kao ni promjene indeksa insulinske osjetljivosti kod žena sa PCOS liječenih metforminom, što je pokazano i u studiji *Diamanti-Kandarakis* i saradnika gdje porast insulinske senzitivnosti mjereno metodom euglikemijskog klampa nakon terapije metforminom nije bio praćen smanjenjem insulina naše<sup>[199]</sup>. Druge studije koje su pokazale smanjenje insulina naše kod žena sa PCOS liječenih metforminom su uključivale žene sa prosječnim ITM između 27 i 36 kg/m<sup>2</sup>, što je više od prosječnog ITM naših ispitanica sa PCOS<sup>[200,201]</sup>. Redukcija AUC glukoze tokom OGTT dobijena u našoj studiji ukazuje da je primarni efekat metformina na sniženje glikemije postignut poboljšanjem glukozne efikasnosti posredovan mehanizmima poput inhibicije mitohondrijalnog kompleksa I, koji je AMPK-zavisan efekat<sup>[111,202]</sup>.

Naši podaci su pokazali da terapija metforminom dovodi doznačajnog sniženja ITM kod žena sa PCOS, slično rezultatima drugih autora<sup>[203]</sup>. Metformin zajedno sa promjenom životnog stila povoljno djeluje na ITM i abdominalnu gojaznost<sup>[115]</sup>. S obzirom da porast ITM pogoršava različite parametre, kao što su hirzutizam i insulinska rezistencija, vrlo je važan tretman gojaznosti u terapiji simptoma PCOS, kao i pratećih komorbiditeta. Mali broj istraživanja se bavio uticajem metformina na visceralne i potkožne depoe masti, gdje je pokazano da dodatak metformina nisko kalorijskoj dijeti dovodi do blagog učinka na tjelesnu težinu i distribuciju abdominalne masti u PCOS<sup>[204]</sup>. U našoj studiji je takođe došlo do poboljšanja tjelesnog sastava, sa smanjenjem udjela tjelesne masti nakon šestomjesečne terapije metforminom. *In vivo* i *in vitro* eksperimentalni podaci su pokazali da metformin djeluje na ushodnu regulaciju ekspresije gena za adiponektin u potkožnom bijelom masnom tkivu, i stimuliše sekreciju adiponektina *in vitro*<sup>[205]</sup>. Međutim, tačan mehanizam poboljšanja

tjelesnog sastava ostaje da se objasni. Jedna od mogućnosti bi mogao biti efekat metformina na regulaciju apetita putem inhibicije sekrecije drugih adipokina, kao što je grelin<sup>[206]</sup>.

Zbog mogućih dugoročnih implikacija PCOS, velika pažnja je usmjerena na liječenje žena sa PCOS kao pacijenta pod rizikom od ozbiljnih kardiovaskularnih i metaboličkih bolesti. Metformin je lijek koji djeluje indirektno i moguće redukuje dugoročne metaboličke komplikacije. Terapija metaboličkog sindroma u PCOS-u uključuje kontrolu krvnog pritiska, gubitak tjelesne mase, modifikaciju dijete i modifikaciju lipida u krvi.

Arterijska hipertenzija je važan prediktor razvoja KVB kod žena sa PCOS<sup>[104]</sup>. Predstavlja neuobičajen nalaz kod mladih žena sa PCOS, što je slučaj i u našoj studiji. Prevalenca hipertenzije raste na 40% u periodu perimenopauze i većinom je vezana za porast gojaznosti<sup>[207]</sup>. Liječenje metforminom tokom šestomjesečnog perioda nije dovelo do sniženja krvnog pritiska. Ranije opaženi pozitivni efekti terapije metforminom na vrijednosti krvnog pritiska dobijeni su u studijama u kojima su korištene doze preko 1500 mg/dan, što je više od doze korištene u našoj studiji<sup>[208]</sup>.

U našoj studiji nisu nađene promjene u ukupnom holesterolu, LDL, HDL holesterolu i TG nakon šestomjesečne terapije metforminom. Ovi rezultati su u skladu sa nekim ranijim studijama, ali i u suprotnosti sa drugim<sup>[209,210]</sup>.

Značajna neslaganja su moguće vezana za kriterije za selekciju žena za PCOS. U našoj studiji, pacijentice su selektovane na osnovu Rotterdamskih kriterijuma, što uključuje i žene bez ili sa malo metaboličkih poremećaja. Činjenica da metformin nije pokazao efekte na lipide u našoj studiji može se objasniti nižim prosječnim ITM i nivoom insulina našte ispitanica, jer su studije pokazale da gojazne pacijentice i pacijentice sa hiperinsulinemijom reaguju bolje na metformin<sup>[211]</sup>.

Metformin inhibiše *nuclear factor kappa* B (NF-κB) i tako smanjuje sistemsku inflamaciju. Naši rezultati nisu pokazali sniženje markera hronične inflamacije niskog stepena hs-CRP na terapiji metforminom i u skladu su sa rezultatima druge 6- mjesečne studije sa metforminom<sup>[212]</sup>. Izostanak terapijskog efekta na inflamatorni marker CRP objašnjava se nižim ITM u našoj studijskoj grupi i nepromjenjenim HOMA-IR tokom tretmana, jer su Möhlig i autori pokazali povezanost između gojaznosti, insulinske rezistencije i inflamatornih markera<sup>[185]</sup>. Moguće je i da dobijena razlika nije značajna zbog relativno manjeg broja ispitivanih subjekata, što treba utvrditi u studijama sa većim brojem pacijentica sa PCOS.

PCOS je povezan sa oksidativnim stresom<sup>[85]</sup>. Ox-LDL je marker oksidativnim stresom indukovane inflamacije i rizika za razvoj KVB<sup>[213]</sup>.

Uticaj insulinskih senzitajzera na ox-LDL nije dovoljno dokumentovan u literaturi. Terapija metforminom nije redukovala nivo ox-LDL kod žena sa PCOS, slično rezultatima drugih studija<sup>[214]</sup>. Povoljni efekti metformina na redukciju ox-LDL su pokazani kod pacijenata sa dijabetesom, putem njegovih antioksidativnih efekata i efekata na imuni sistem<sup>[215]</sup>. Kod pacijentica sa PCOS pokazano je da terapija metforminom smanjuje oksidaciju lipida i redukuje lipooksidativni stres<sup>[216]</sup>.

Tokom terapije mioiozitolom nije došlo do značajnog smanjenja indeksa insulinske rezistencije i analiziranih hormonskih parametara. S druge strane, ranije studije su pokazale poboljšanje hormonskog i metaboličkog miljea nakon terapije mioinozitolom kod žena sa PCOS<sup>[217]</sup>. Međutim, *Artini* i saradnici su pokazali značajno smanjenje nivoa insulina, bez promjene nivoa androgena nakon 12-nedeljnog tretmana sa mioinozitolom<sup>[132]</sup>. Nekoliko hipoteza je moguće za objašnjenje ovih neslaganja. Kombinovana primjena mio- i dehiroinozitola je pokazala bolje efekte na metabolički profil u poređenu sa samostalnom primjenom mioinozitola<sup>[218]</sup>. Mioinozitol utiče na metabolizam insulina uglavnom na nivou jajnika, dok dehiroinozitol smanjuje perifernu hiperinsulinemiju i hiperandrogenizam<sup>[219]</sup>. Izostanak poboljšanja insulina našte i u odgovoru na opterećenje glukozom, kao i smanjenja nivoa androgena kod naših pacijentica liječenih mioinozitolom upućuje da je kompenzatorna hiperinsulinemija samo dijelom rezultat promjene u sintezi ili oslobođanju DHI-IFG. Izostanak efikasnosti mioinozitola na redukciju nivoa androgena može se objasniti prisustvom funkcionalnog deficit (intracelularni defekt u sintezi i oslobođanju DHI-IFG medijatora), više nego prostim nutritivnim deficitom inozitola. Raniji podaci upućuju na to da promjene nivoa androgena mogu postati značajne kod dužeg trajanja tretmana. Prema tome, potrebna je dugotrajna terapija sa MI u liječenju androgenog viška, anovulacije i IR<sup>[220]</sup>.

U našoj studiji nađeno je sniženje nivoa LH kod pacijentica liječenih mioinozitolom. Pokazan je i trend smanjenja estradiola na terapiji mioinozitolom, što se može objasniti efektom na smanjenje masnog tkiva ili direktnom inhibicijom aktivnosti aromataze<sup>[221]</sup>. Nije nađen efekat mioinozitola na smanjenje vrijednosti AMH tokom terapije. Samo jedna studija je pokazala supresiju nivoa AMH, što je objašnjeno redukcijom ukupnog broja antralnih folikula i volumena jajnika, ali bez objašnjenja mehanizma redukcije broja antralnih folikula<sup>[220]</sup>.

Nedostatak MI ili oštećenje inozitol zavisnih TSH signalnih puteva mogu pogodovati razvoju hipotireoidizma, što naglašava ključnu ulogu MI u očuvanju tiroidne fiziologije, povećanju dostupnosti joda i sprečavanju tiroidne disfunkcije. Kod insulin rezistentnih pacijentica sa PCOS liječenih insulinskim senzitajzerima, došlo je do smanjenja TSH samo kod pacijentica sa subkliničkom hipotireozom liječenih kombinacijom metformina i mioinozitola, za razliku od pacijentica liječenih samo metforminom<sup>[222]</sup>. U našoj studiji su praćene eutiroidne pacijentice sa PCOS, i zato efekat mioinozitola nije opažen.

Pokazali smo da kod naših gojaznih žena liječenih mioinozitolom dolazi do značajne redukcije abdominalne masti i pozitivnog uticaja na tjelesni sastav, sa trendom redukcije ITM, što je u skladu s rezultatima drugih autora<sup>[223]</sup>. Smanjenje prirasta bijelog masnog tkiva na terapiji MI je takođe nađeno u eksperimentalnim studijama, ali precizan mehanizam nije razjašnjen<sup>[150]</sup>. Smatra se da redukcija masne mase može prethoditi dugoročnom efektu mioinozitola na insulinsku senzitivnost<sup>[224]</sup>. Uprkos redukciji tjelesne mase naših ispitanica, terapija mioinozitolom nije dovela do porasta adiponektina, slično rezultatima studije žena sa metaboličkim sindromom u postmenopauzi<sup>[225]</sup>. Prema našim saznanjima ovo je prva studija kod žena sa PCOS koja je evaluirala promjene nivoa adiponektina tokom 6-mjesečne terapije mioinozitolom. Potrebne su studije dužeg trajanja sa mioinozitolom koje bi dale više podataka o efektima na insulinsku senzitivnost i uticaju na insulinske signalne puteve kod žena sa PCOS.

U našoj studiji suplementacija sa mioinozitolom i folnom kiselinom je pozitivno uticala na metaboličke parametre i kardiovaskularni profil žena sa PCOS. Suplementacija mioinozitolom dovela je do redukcije dijastolnog krvnog pritiska, slično drugim studijama<sup>[225]</sup>. Mioinozitol djeluje na vaskulaturu u animalnim modelima putem stvaranja neurogene i endotel-zavisne relaksacije, održava NO signalizaciju, sprečava i popravlja endotelnu disfunkciju<sup>[226]</sup>. Osim toga, mioinozitol je supstrat za biosintezu fosfatidilinozitol-4,5 bifosfata, ključnog modulatora mnogih jonskih kanala<sup>[227]</sup>. Posljedično, mioinozitolski transporteri mogu imati jak uticaj na funkciju jonskih kanala u vaskulaturi, posebno K<sup>+</sup> kanala, što je ključni mehanizam u modulaciji arterijske kontraktilnosti<sup>[228]</sup>. Pozitivni efekti terapije mioinozitolom na dijastolni krvni pritisak u našoj studiji upućuju da se metabolički rizik može modifikovati terapijom mioinozitolom.

Mioinozitol utiče na PCOS *per se*, a ne na inflamaciju izazvanu sa PCOS. Neke studije su pokazale da unos folata (5mg/dan) kod pacijentica sa PCOS smanjuje hsCRP<sup>[229]</sup>. Druge

studije, uključujući i našu nisu pokazale povoljan efekat primjene folata na inflamatorne citokine<sup>[230]</sup>. Prosječan hsCRP nakon tretmana mioinozitolom je čak porastao, što se može pripisati većem postotku pušača u mioinozitolskoj grupi<sup>[231]</sup>.

Kod žena sa PCOS terapija mioinozitolom može uticati na metabolizam što vodi poboljšanju lipidnog profila. U našoj studiji, mioinozitol je imao značajan povoljan efekat na ukupni holesterol, što je pokazano i u ranijim studijama<sup>[220]</sup>.

Nisu nađene značajne razlike u nivou LDL-holesterola, HDL holesterola i TG na terapiji mioinozitolom, a i ranije studije su pokazale da je kombinacija mioinozitola i dehiroinozitola u fiziološkom odnosu 40:1 efikasnija nego sam mioinozitol u smanjenju LDL holesterola, TG i HOMA indeksa<sup>[232]</sup>.

Terapija sa mioinozitolom je efikasna u redukciji oksidativnih poremećaja kod pacijenata sa PCOS putem poboljšanja IR<sup>[233]</sup>. Serumski nivo ox-LDL je bio nepromijenjen nakon 6-mjesečne terapije mioinozitolom u našoj studiji. Prema našim saznanjima ovo je prvi rad koji je evaluirao efekte primjene inozitola na serumski nivo ox-LDL kao markera oksidativnog stresa kod žena sa PCOS.

Nikakvi neželjeni efekti nisu zapaženi tokom primjene MI. S druge strane kod tri pacijenta koja su uzimala MET došlo je do gastrointestinalih neželjenih efekata, koja nisu bila razlog povlačenja iz studije.

Naša studija ima nekoliko ograničenja. Prije svega, mi nismo ispitivali komplijansu unosa metformina i mioinozitola putem biohemiskog praćenja. Drugo ograničenje ove randomizovane kontrolisane terapijske studije je da tretman nije bio skriven, s obzirom na različit način primjene ovih lijekova.

Naša studija pokazuje da su MET i MI jednako efikasni u poboljšanju metaboličkih i antropometrijskih parametara kao što su ITM i OS, a da je metformin efikasniji u redukciji hiperandrogenizma. Metformin dovodi do ushodne regulacije adiponektina kod gojaznih pacijentica što može biti prediktor povojnih metaboličkih ishoda kod žena sa PCOS. Naša studija ukazuje da je gubitak tjelesne težine presudan i može prethoditi promjenama insulinske senzitivnosti i ostaje prva terapijska opcija kod žena sa ovim sindromom. Mioinozitol je imao bolje efekte na redukciju dijastolnog krvnog pritiska, što upućuje na moguć efekat tretmana na smanjenje budućeg razvoja KV bolesti u PCOS. Potrebne su dalje randomizovane studije, sa dovoljnim brojem učesnika da bi se potvrdili naši podaci.

## 7. ZAKLJUČCI

Na osnovu prikazanih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. U odnosu na zdrave kontrole, pacijentkinje sa PCOS su imale:
  - Povišene vrijednosti LH, estradiola i AMH, a niže vrijednosti FSH;
  - Hiperandrogenemiju, koju karakterišu povišene vrijednosti testosterona, DHEAS i FAI;
  - Izraženo prisustvo akni i hirzutizma;
  - Snižene vrijednosti adiponektina;
  - Povišene biomarkere insulinske rezistencije: HOMA-IR, QUICKI, AUC<sub>Insulin</sub> i AUC<sub>Glukoze</sub>;
  - Značajno zadebljanu stromu i povećanu zapreminu jajnika.
2. Prekomjerno uhranjene/gojazne žene sa PCOS sa BMI>25 kg/m<sup>2</sup> su imale najniži nivo adiponektina, koji je bio značajno niži u odnosu na normalno uhranjene zdrave žene sa BMI≤25 kg/m<sup>2</sup> i prekomjerno uhranjene/gojazne zdrave žene sa BMI>25 kg/m<sup>2</sup>.
3. Adiponektin je negativno korelirao sa ITM, OS i indeksima tjelesnog sastava, markerima insulinske rezistencije HOMA, AUC<sub>Insulin</sub> i AUC<sub>Glukoze</sub>, markerom systemske inflamacije hsCRP i markerom hiperandrogenizma FAI kod žena sa PCOS. Postoji pozitivna povezanost adiponektina sa indeksom insulinske osjetljivosti QUICKI, HDL holesterolom i SHBG.
4. Šestomjesečna terapija metforminom kod žena sa PCOS:
  - Smanjuje tjelesnu težinu, ITM, OS i povoljno utiče na tjelesni sastav kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih, a obim struka kod normalno uhranjenih;
  - Snižava hiperandrogenemiju i smanjuje kliničke simptome hiperandrogenizma, snižava LH i estradiol kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih i nivo AMH kod normalno uhranjenih;
  - Nije izazvala promjene serumskih nivoa glukoze i insulina, markera insulinske rezistencije, izuzev smanjenja AUC<sub>Glukoze</sub> tokom OGTT testa;
  - Nije dovela do smanjenja markera systemske inflamacije i promjene lipidograma;
  - Nije dovela do redukcije sistolnog niti dijastolnog krvnog pritiska.

5. Šestomjesečna terapija mioinozitolom kod žena sa PCOS:

- Smanjuje OS i popravlja tjelesni sastav kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih;
- Snižava nivo LH i estradiola kod normalno uhranjenih, bez efekta na ostale hormonske parametre;
- Nije izazvala promjene serumskih nivoa glukoze i insulina, ni markera insulinske rezistencije;
- Bila je praćena porastom hs-CRP i sniženjem ukupnog holesterola;
- Dovela je do sniženja dijastolnog krvnog pritiska kod prekomjerno uhranjenih/gojaznih.

6. MET i MI su jednako efikasni u poboljšanju metaboličkih i antropometrijskih parametara kao što su ITM i OS.

7. MET je efikasniji u redukciji hiperandrogenizma.

8. MI je imao bolje efekte na redukciju dijastolnog krvnog pritiska, što upućuje na moguć efekat tretmana na smanjenje budućeg razvoja KV bolesti u PCOS-u.

## **8. LITERATURA**

1. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol* 2013;6:1–13.
2. Conway G, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Franks S, Gambineri A, et al. The polycystic ovary syndrome: a position statement from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol* 2014;171(4):P1-29.
3. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;81(1):19–25.
4. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(11):4237–45.
5. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) [Internet]. Office of Disease Prevention [cited 2021 Oct 4];Available from: <https://prevention.nih.gov/research-priorities/research-needs-and-gaps/pathways-prevention/evidence-based-methodology-workshop-polycystic-ovary-syndrome-pcos>
6. Witchel SF, Oberfield SE, Peña AS. Polycystic Ovary Syndrome: Pathophysiology, Presentation, and Treatment With Emphasis on Adolescent Girls. *J Endocr Soc* 2019;3(8):1545–73.
7. Abbott DH, Barnett DK, Bruns CM, Dumesic DA. Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental aetiology for polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod Update* 2005;11(4):357–74.
8. Franks S, Berga SL. Does PCOS have developmental origins? *Fertil Steril* 2012;97(1):2–6.
9. Barontini M, García-Rudaz MC, Veldhuis JD. Mechanisms of hypothalamic-pituitary-gonadal disruption in polycystic ovarian syndrome. *Arch Med Res* 2001;32(6):544–52.
10. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005;352(12):1223–36.

11. Rosenfield RL, Ehrmann DA. The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocr Rev* 2016;37(5):467–520.
12. Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Navab A, Magoffin DA. Luteinizing hormone receptor, steroidogenesis acute regulatory protein, and steroidogenic enzyme messenger ribonucleic acids are overexpressed in thecal and granulosa cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1318–23.
13. Marti N, Galván JA, Pandey AV, Trippel M, Tapia C, Müller M, et al. Genes and proteins of the alternative steroid backdoor pathway for dihydrotestosterone synthesis are expressed in the human ovary and seem enhanced in the polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2017;441:116–23.
14. McAllister JM, Modi B, Miller BA, Biegler J, Bruggeman R, Legro RS, et al. Overexpression of a DENND1A isoform produces a polycystic ovary syndrome theca phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(15):E1519–1527.
15. Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006;132(2):191–206.
16. Jonard S, Dewailly D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004;10(2):107–17.
17. Hsueh AJW, Kawamura K, Cheng Y, Fauser BCJM. Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr Rev* 2015;36(1):1–24.
18. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update* 2014;20(3):370–85.
19. Dumont A, Robin G, Dewailly D. Anti-müllerian hormone in the pathophysiology and diagnosis of polycystic ovarian syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2018;25(6):377–84.
20. Sen A, Hammes SR. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function. *Mol Endocrinol* 2010;24(7):1393–403.

21. Adams J, Liu Z, Ren YA, Wun W-S, Zhou W, Kenigsberg S, et al. Enhanced Inflammatory Transcriptome in the Granulosa Cells of Women With Polycystic Ovarian Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101(9):3459–68.
22. Hayes MG, Urbanek M, Ehrmann DA, Armstrong LL, Lee JY, Sisk R, et al. Genome-wide association of polycystic ovary syndrome implicates alterations in gonadotropin secretion in European ancestry populations. *Nat Commun* 2015;6:7502.
23. Rosenfield RL, Bordini B. Evidence that obesity and androgens have independent and opposing effects on gonadotropin production from puberty to maturity. *Brain Res* 2010;1364:186–97.
24. Ropelato MG, Rudaz MCG, Escobar ME, Bengolea SV, Calcagno ML, Veldhuis JD, et al. Acute effects of testosterone infusion on the serum luteinizing hormone profile in eumenorrheic and polycystic ovary syndrome adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(9):3602–10.
25. Mehta RV, Patel KS, Coffler MS, Dahan MH, Yoo RY, Archer JS, et al. Luteinizing hormone secretion is not influenced by insulin infusion in women with polycystic ovary syndrome despite improved insulin sensitivity during pioglitazone treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(4):2136–41.
26. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev* 2012;33(6):981–1030.
27. Rojas J, Chávez M, Olivar L, Rojas M, Morillo J, Mejías J, et al. Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiologic labyrinth. *Int J Reprod Med* 2014;2014:719050.
28. Cree-Green M, Rahat H, Newcomer BR, Bergman BC, Brown MS, Coe GV, et al. Insulin Resistance, Hyperinsulinemia, and Mitochondria Dysfunction in Nonobese Girls With Polycystic Ovarian Syndrome. *J Endocr Soc* 2017;1(7):931–44.
29. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1995;96(2):801–10.

30. Glintborg D. Endocrine and metabolic characteristics in polycystic ovary syndrome. *Dan Med J* 2016;63(4):B5232.
31. Macut D, Bjekić-Macut J, Rahelić D, Doknić M. Insulin and the polycystic ovary syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2017;130:163–70.
32. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Trends Mol Med* 2006;12(7):324–32.
33. Du X, Rosenfield RL, Qin K. KLF15 Is a transcriptional regulator of the human 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5 gene. A potential link between regulation of testosterone production and fat stores in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(7):2594–601.
34. Wu S, Divall S, Nwaopara A, Radovick S, Wondisford F, Ko C, et al. Obesity-induced infertility and hyperandrogenism are corrected by deletion of the insulin receptor in the ovarian theca cell. *Diabetes* 2014;63(4):1270–82.
35. Dunaif A, Thomas A. Current concepts in the polycystic ovary syndrome. *Annu Rev Med* 2001;52:401–19.
36. l'Allemand D, Penhoat A, Lebrethon MC, Ardèvol R, Baehr V, Oelkers W, et al. Insulin-like growth factors enhance steroidogenic enzyme and corticotropin receptor messenger ribonucleic acid levels and corticotropin steroidogenic responsiveness in cultured human adrenocortical cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(11):3892–7.
37. Baptiste CG, Battista M-C, Trottier A, Baillargeon J-P. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;122(1–3):42–52.
38. Barber TM, Franks S. Adipocyte biology in polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2013;373(1–2):68–76.
39. Lim SS, Norman RJ, Davies MJ, Moran LJ. The effect of obesity on polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2013;14(2):95–109.
40. Lee M-J, Wu Y, Fried SK. Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Mol Aspects Med* 2013;34(1):1–11.

41. White UA, Tchoukalova YD. Sex dimorphism and depot differences in adipose tissue function. *Biochim Biophys Acta* 2014;1842(3):377–92.
42. Dumesic DA, Akopians AL, Madrigal VK, Ramirez E, Margolis DJ, Sarma MK, et al. Hyperandrogenism Accompanies Increased Intra-Abdominal Fat Storage in Normal Weight Polycystic Ovary Syndrome Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101(11):4178–88.
43. Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell* 2014;156(1–2):20–44.
44. Chang W, Goodarzi MO, Williams H, Magoffin DA, Pall M, Azziz R. Adipocytes from women with polycystic ovary syndrome demonstrate altered phosphorylation and activity of glycogen synthase kinase 3. *Fertil Steril* 2008;90(6):2291–7.
45. O'Reilly MW, House PJ, Tomlinson JW. Understanding androgen action in adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014;143:277–84.
46. Hazlehurst JM, Oprescu AI, Nikolaou N, Di Guida R, Grinbergs AEK, Davies NP, et al. Dual-5 $\alpha$ -Reductase Inhibition Promotes Hepatic Lipid Accumulation in Man. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101(1):103–13.
47. O'Reilly MW, Kempegowda P, Walsh M, Taylor AE, Manolopoulos KN, Allwood JW, et al. AKR1C3-Mediated Adipose Androgen Generation Drives Lipotoxicity in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102(9):3327–39.
48. Welt CK, Carmina E. Clinical review: Lifecycle of polycystic ovary syndrome (PCOS): from in utero to menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(12):4629–38.
49. Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Rev Mol Med* 2008;10:e3.
50. Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet* 2010;375(9733):2267–77.
51. Chen DL, Liess C, Poljak A, Xu A, Zhang J, Thoma C, et al. Phenotypic Characterization of Insulin-Resistant and Insulin-Sensitive Obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(11):4082–91.

52. Grundy SM. Overnutrition, ectopic lipid and the metabolic syndrome. *J Investig Med* 2016;64(6):1082–6.
53. de Zegher F, Reinehr T, Malpique R, Darendeliler F, López-Bermejo A, Ibáñez L. Reduced Prenatal Weight Gain and/or Augmented Postnatal Weight Gain Precedes Polycystic Ovary Syndrome in Adolescent Girls. *Obesity (Silver Spring)* 2017;25(9):1486–9.
54. Keller E, Chazenbalk GD, Aguilera P, Madrigal V, Grogan T, Elashoff D, et al. Impaired preadipocyte differentiation into adipocytes in subcutaneous abdominal adipose of PCOS-like female rhesus monkeys. *Endocrinology* 2014;155(7):2696–703.
55. González F. Nutrient-Induced Inflammation in Polycystic Ovary Syndrome: Role in the Development of Metabolic Aberration and Ovarian Dysfunction. *Semin Reprod Med* 2015;33(4):276–86.
56. Pasquali R, Gambineri A. Glucose intolerance states in women with the polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2013;36(8):648–53.
57. Repaci A, Gambineri A, Pasquali R. The role of low-grade inflammation in the polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2011;335(1):30–41.
58. Yildiz BO. Polycystic ovary syndrome: is obesity a symptom? *Womens Health (Lond)* 2013;9(6):505–7.
59. Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* 2003;46(12):1594–603.
60. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112(12):1796–808.
61. Chen X, Jia X, Qiao J, Guan Y, Kang J. Adipokines in reproductive function: a link between obesity and polycystic ovary syndrome. *J Mol Endocrinol* 2013;50(2):R21-37.
62. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009;302(2):179–88.

63. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002;8(11):1288–95.
64. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):447–52.
65. O'Connor A, Phelan N, Tun TK, Boran G, Gibney J, Roche HM. High-molecular-weight adiponectin is selectively reduced in women with polycystic ovary syndrome independent of body mass index and severity of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(3):1378–85.
66. Wickham EP, Cheang KI, Clore JN, Baillargeon J-P, Nestler JE. Total and high-molecular weight adiponectin in women with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 2011;60(3):366–72.
67. Comim FV, Hardy K, Franks S. Adiponectin and its receptors in the ovary: further evidence for a link between obesity and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *PLoS One* 2013;8(11):e80416.
68. Caplonch-Amer G, Lladó I, Proenza AM, García-Palmer FJ, Gianotti M. Opposite effects of 17-β estradiol and testosterone on mitochondrial biogenesis and adiponectin synthesis in white adipocytes. *J Mol Endocrinol* 2014;52(2):203–14.
69. Li S, Huang X, Zhong H, Peng Q, Chen S, Xie Y, et al. Low circulating adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome: an updated meta-analysis. *Tumour Biol* 2014;35(5):3961–73.
70. Escobar-Morreale HF, San Millán JL. Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18(7):266–72.
71. Tan BK, Chen J, Digby JE, Keay SD, Kennedy CR, Randeva HS. Upregulation of adiponectin receptor 1 and 2 mRNA and protein in adipose tissue and adipocytes in insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Diabetologia* 2006;49(11):2723–8.
72. Kalish GM, Barrett-Connor E, Laughlin GA, Gulanski BI, Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention Trial. Association of endogenous sex hormones and

- insulin resistance among postmenopausal women: results from the Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(4):1646–52.
73. Bethea SW, Nestler JE. Comorbidities in polycystic ovary syndrome: their relationship to insulin resistance. *Panminerva Med* 2008;50(4):295–304.
74. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(1):165–9.
75. Carmina E, Campagna AM, Lobo RA. Emergence of ovulatory cycles with aging in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) alters the trajectory of cardiovascular and metabolic risk factors. *Hum Reprod* 2013;28(8):2245–52.
76. Torchen LC, Fogel NR, Brickman WJ, Paparodis R, Dunaif A. Persistent apparent pancreatic  $\beta$ -cell defects in premenarchal PCOS relatives. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(10):3855–62.
77. Kakoly NS, Earnest A, Teede HJ, Moran LJ, Joham AE. The Impact of Obesity on the Incidence of Type 2 Diabetes Among Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes Care* 2019;42(4):560–7.
78. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(12):4565–92.
79. Legro RS, Gnatuk CL, Kunselman AR, Dunaif A. Changes in glucose tolerance over time in women with polycystic ovary syndrome: a controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(6):3236–42.
80. Kelly CJG, Speirs A, Gould GW, Petrie JR, Lyall H, Connell JMC. Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(2):742–6.
81. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart,

Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120(16):1640–5.

82. Legro RS, Kunselman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001;111(8):607–13.
83. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG, Kandarakis SA, Chrousos GP. Pathophysiology and types of dyslipidemia in PCOS. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18(7):280–5.
84. Macut D, Panidis D, Glisić B, Spanos N, Petakov M, Bjekić J, et al. Lipid and lipoprotein profile in women with polycystic ovary syndrome. *Can J Physiol Pharmacol* 2008;86(4):199–204.
85. Macut D, Damjanovic S, Panidis D, Spanos N, Glisic B, Petakov M, et al. Oxidised low-density lipoprotein concentration - early marker of an altered lipid metabolism in young women with PCOS. *Eur J Endocrinol* 2006;155(1):131–6.
86. Bentley-Lewis R, Seely E, Dunaif A. Ovarian hypertension: polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011;40(2):433–49, ix–x.
87. Joham AE, Boyle JA, Zoungas S, Teede HJ. Hypertension in Reproductive-Aged Women With Polycystic Ovary Syndrome and Association With Obesity. *Am J Hypertens* 2015;28(7):847–51.
88. Macut D, Bačević M, Božić-Antić I, Bjekić-Macut J, Čivčić M, Erceg S, et al. Predictors of subclinical cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome: interrelationship of dyslipidemia and arterial blood pressure. *Int J Endocrinol* 2015;2015:812610.
89. Cascella T, Palomba S, Tauchmanovà L, Manguso F, Di Biase S, Labella D, et al. Serum aldosterone concentration and cardiovascular risk in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(11):4395–400.
90. Wild RA, Carmina E, Diamanti-Kandarakis E, Dokras A, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. Assessment of cardiovascular risk and prevention of cardiovascular disease in women with the polycystic ovary syndrome: a consensus statement by the

Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(5):2038–49.

91. Macut D, Bjekić-Macut J, Savić-Radojević A. Dyslipidemia and oxidative stress in PCOS. *Front Horm Res* 2013;40:51–63.
92. Paradisi G, Steinberg HO, Hempfling A, Cronin J, Hook G, Shepard MK, et al. Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction. *Circulation* 2001;103(10):1410–5.
93. Diamanti-Kandarakis E, Alexandraki K, Piperi C, Protopsalti A, Katsikis I, Paterakis T, et al. Inflammatory and endothelial markers in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Clin Invest* 2006;36(10):691–7.
94. Bajuk Studen K, Jensterle Sever M, Pfeifer M. Cardiovascular risk and subclinical cardiovascular disease in polycystic ovary syndrome. *Front Horm Res* 2013;40:64–82.
95. Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsberg KE, et al. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(11):2414–21.
96. Calderon-Margalit R, Siscovick D, Merkin SS, Wang E, Daviglus ML, Schreiner PJ, et al. Prospective association of polycystic ovary syndrome with coronary artery calcification and carotid-intima-media thickness: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Women's study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34(12):2688–94.
97. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (\*). *Annu Rev Immunol* 2009;27:165–97.
98. Duleba AJ, Dokras A. Is PCOS an inflammatory process? *Fertil Steril* 2012;97(1):7–12.
99. Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Alexandraki K, Piperi C, Aessopos A, Katsikis I, et al. Indices of low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin. *Hum Reprod* 2006;21(6):1426–31.

100. Escobar-Morreale HF, Villuendas G, Botella-Carretero JI, Sancho J, San Millán JL. Obesity, and not insulin resistance, is the major determinant of serum inflammatory cardiovascular risk markers in pre-menopausal women. *Diabetologia* 2003;46(5):625–33.
101. Macut D, Simic T, Lissounov A, Pljesa-Ercegovac M, Bozic I, Djukic T, et al. Insulin resistance in non-obese women with polycystic ovary syndrome: relation to byproducts of oxidative stress. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2011;119(7):451–5.
102. Azziz R, Adashi EY. Stein and Leventhal: 80 years on. *Am J Obstet Gynecol* 2016;214(2):247.e1-247.e11.
103. Zhou Y, Wang X, Jiang Y, Ma H, Chen L, Lai C, et al. Association between polycystic ovary syndrome and the risk of stroke and all-cause mortality: insights from a meta-analysis. *Gynecol Endocrinol* 2017;33(12):904–10.
104. Glintborg D, Rubin KH, Nybo M, Abrahamsen B, Andersen M. Cardiovascular disease in a nationwide population of Danish women with polycystic ovary syndrome. *Cardiovasc Diabetol* 2018;17(1):37.
105. Diamanti-Kandarakis E, Christakou CD, Kandaraki E, Economou FN. Metformin: an old medication of new fashion: evolving new molecular mechanisms and clinical implications in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2010;162(2):193–212.
106. Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia* 2017;60(9):1577–85.
107. Hirsch A, Hahn D, Kempná P, Hofer G, Nuoffer J-M, Mullis PE, et al. Metformin inhibits human androgen production by regulating steroidogenic enzymes HSD3B2 and CYP17A1 and complex I activity of the respiratory chain. *Endocrinology* 2012;153(9):4354–66.
108. Kurzthaler D, Hadziomerovic-Pekic D, Wildt L, Seeber BE. Metformin induces a prompt decrease in LH-stimulated testosterone response in women with PCOS independent of its insulin-sensitizing effects. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;12:98.
109. Lee BH, Indran IR, Tan HM, Li Y, Zhang Z, Li J, et al. A Dietary Medium-Chain Fatty Acid, Decanoic Acid, Inhibits Recruitment of Nur77 to the HSD3B2 Promoter In Vitro

- and Reverses Endocrine and Metabolic Abnormalities in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology* 2016;157(1):382–94.
110. McCartney CR, Marshall JC. CLINICAL PRACTICE. Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med* 2016;375(1):54–64.
  111. Pau CT, Keefe C, Duran J, Welt CK. Metformin improves glucose effectiveness, not insulin sensitivity: predicting treatment response in women with polycystic ovary syndrome in an open-label, interventional study. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(5):1870–8.
  112. Cosma M, Swiglo BA, Flynn DN, Kurtz DM, Labella ML, Mullan RJ, et al. Clinical review: Insulin sensitizers for the treatment of hirsutism: a systematic review and metaanalyses of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(4):1135–42.
  113. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;(5):CD003053.
  114. Morin-Papunen L, Rantala AS, Unkila-Kallio L, Tiitinen A, Hippeläinen M, Perheentupa A, et al. Metformin improves pregnancy and live-birth rates in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): a multicenter, double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(5):1492–500.
  115. Naderpoor N, Shorakae S, de Courten B, Misso ML, Moran LJ, Teede HJ. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2015;21(5):560–74.
  116. Glintborg D, Altinok ML, Mumm H, Hermann AP, Ravn P, Andersen M. Body composition is improved during 12 months' treatment with metformin alone or combined with oral contraceptives compared with treatment with oral contraceptives in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(7):2584–91.
  117. Hoeger KM, Kochman L, Wixom N, Craig K, Miller RK, Guzick DS. A randomized, 48-week, placebo-controlled trial of intensive lifestyle modification and/or metformin

- therapy in overweight women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Fertil Steril* 2004;82(2):421–9.
118. Singh S, Akhtar N, Ahmad J. Plasma adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome: impact of metformin treatment in a case-control study. *Diabetes Metab Syndr* 2012;6(4):207–11.
  119. Jakubowska J, Bohdanowicz-Pawlak A, Milewicz A, Szymczak J, Bednarek-Tupikowska G, Demissie M. Plasma cytokines in obese women with polycystic ovary syndrome, before and after metformin treatment. *Gynecol Endocrinol* 2008;24(7):378–84.
  120. Glintborg D, Mumm H, Altinok ML, Richelsen B, Bruun JM, Andersen M. Adiponectin, interleukin-6, monocyte chemoattractant protein-1, and regional fat mass during 12-month randomized treatment with metformin and/or oral contraceptives in polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2014;37(8):757–64.
  121. Patel R, Shah G. Effect of metformin on clinical, metabolic and endocrine outcomes in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr Med Res Opin* 2017;33(9):1545–57.
  122. Ibáñez L, Díaz M, Sebastiani G, Marcos MV, López-Bermejo A, de Zegher F. Oral contraception vs insulin sensitization for 18 months in nonobese adolescents with androgen excess: posttreatment differences in C-reactive protein, intima-media thickness, visceral adiposity, insulin sensitivity, and menstrual regularity. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(5):E902-907.
  123. Saisho Y. Metformin and Inflammation: Its Potential Beyond Glucose-lowering Effect. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2015;15(3):196–205.
  124. Al-Suod H, Ligor M, Rațiu I-A, Rafińska K, Górecki R, Buszewski B. A window on cyclitols: Characterization and analytics of inositol. *Phytochemistry Letters* 2017;20:507–19.
  125. Heimark D, McAllister J, Larner J. Decreased myo-inositol to chiro-inositol (M/C) ratios and increased M/C epimerase activity in PCOS theca cells demonstrate increased insulin sensitivity compared to controls. *Endocr J* 2014;61(2):111–7.

126. Facchinetti F, Dante G, Neri I. The Ratio of MI to DCI and Its Impact in the Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: Experimental and Literature Evidences [Internet]. In: Genazzani AR, Tarlatzis BC, editors. *Frontiers in Gynecological Endocrinology: Volume 3: Ovarian Function and Reproduction - From Needs to Possibilities*. Cham: Springer International Publishing; 2016 [cited 2021 Oct 4]. page 103–9. Available from: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-23865-4\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-23865-4_13)
127. Croze ML, Soulage CO. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie* 2013;95(10):1811–27.
128. Baillargeon J-P, Diamanti-Kandarakis E, Ostlund RE, Apridonidze T, Iuorno MJ, Nestler JE. Altered D-chiro-inositol urinary clearance in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 2006;29(2):300–5.
129. Laganà AS, Rossetti P, Buscema M, La Vignera S, Condorelli RA, Gullo G, et al. Metabolism and Ovarian Function in PCOS Women: A Therapeutic Approach with Inositol. *Int J Endocrinol* 2016;2016:6306410.
130. Benelli E, Del Ghianda S, Di Cosmo C, Tonacchera M. A Combined Therapy with Myo-Inositol and D-Chiro-Inositol Improves Endocrine Parameters and Insulin Resistance in PCOS Young Overweight Women. *Int J Endocrinol* 2016;2016:3204083.
131. Minozzi M, Costantino D, Guaraldi C, Unfer V. The effect of a combination therapy with myo-inositol and a combined oral contraceptive pill versus a combined oral contraceptive pill alone on metabolic, endocrine, and clinical parameters in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2011;27(11):920–4.
132. Artini PG, Di Berardino OM, Papini F, Genazzani AD, Simi G, Ruggiero M, et al. Endocrine and clinical effects of myo-inositol administration in polycystic ovary syndrome. A randomized study. *Gynecol Endocrinol* 2013;29(4):375–9.
133. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, Gunn RD, Allan G. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1999;340(17):1314–20.
134. Unfer V, Facchinetti F, Orrù B, Giordani B, Nestler J. Myo-inositol effects in women with PCOS: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Endocr Connect* 2017;6(8):647–58.

135. Unfer V, Carlomagno G, Papaleo E, Vailati S, Candiani M, Baillargeon J-P. Hyperinsulinemia Alters Myoinositol to d-chiroinositol Ratio in the Follicular Fluid of Patients With PCOS. *Reprod Sci* 2014;21(7):854–8.
136. Unfer V, Proietti S, Gullo G, Porcaro G, Carlomagno G, Bizzarri M. Polycystic Ovary Syndrome: Features, Diagnostic Criteria and Treatments. *Endocrinol Metab Synd* 2014;03(03):1000136.
137. Bevilacqua A, Bizzarri M. Physiological role and clinical utility of inositol in polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2016;37:129–39.
138. Regidor P-A, Schindler AE, Lesoine B, Druckman R. Management of women with PCOS using myo-inositol and folic acid. New clinical data and review of the literature. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2018;34(2):/j/hmbci.2018.34.issue-2/hmbci-2017-0067/hmbci-2017-0067.xml.
139. Isabella R, Raffone E. CONCERN: Does ovary need D-chiro-inositol? *J Ovarian Res* 2012;5(1):14.
140. Carlomagno G, Unfer V, Roseff S. The D-chiro-inositol paradox in the ovary. *Fertil Steril* 2011;95(8):2515–6.
141. Facchinetti F, Unfer V, Dewailly D, Kamenov ZA, Diamanti-Kandarakis E, Laganà AS, et al. Inositol in Polycystic Ovary Syndrome: An Overview on the Advances. *Trends Endocrinol Metab* 2020;31(6):435–47.
142. Bevilacqua A, Dragotto J, Giuliani A, Bizzarri M. Myo-inositol and D-chiro-inositol (40:1) reverse histological and functional features of polycystic ovary syndrome in a mouse model. *J Cell Physiol* 2019;234(6):9387–98.
143. Nordio M, Basciani S, Camajani E. The 40:1 myo-inositol/D-chiro-inositol plasma ratio is able to restore ovulation in PCOS patients: comparison with other ratios. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019;23(12):5512–21.
144. Genazzani AD, Santagni S, Rattighieri E, Chierchia E, Despini G, Marini G, et al. Modulatory role of D-chiro-inositol (DCI) on LH and insulin secretion in obese PCOS patients. *Gynecol Endocrinol* 2014;30(6):438–43.

145. Gerli S, Papaleo E, Ferrari A, Di Renzo GC. Randomized, double blind placebo-controlled trial: effects of myo-inositol on ovarian function and metabolic factors in women with PCOS. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2007;11(5):347–54.
146. Costantino D, Minozzi G, Minozzi E, Guaraldi C. Metabolic and hormonal effects of myo-inositol in women with polycystic ovary syndrome: a double-blind trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2009;13(2):105–10.
147. Croze ML, Géloën A, Soulage CO. Abnormalities in myo-inositol metabolism associated with type 2 diabetes in mice fed a high-fat diet: benefits of a dietary myo-inositol supplementation. *Br J Nutr* 2015;113(12):1862–75.
148. Santamaria A, Giordano D, Corrado F, Pintaudi B, Interdonato ML, Vieste GD, et al. One-year effects of myo-inositol supplementation in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Climacteric* 2012;15(5):490–5.
149. Corrado F, D'Anna R, Di Vieste G, Giordano D, Pintaudi B, Santamaria A, et al. The effect of myoinositol supplementation on insulin resistance in patients with gestational diabetes. *Diabet Med* 2011;28(8):972–5.
150. Croze ML, Vella RE, Pillon NJ, Soula HA, Hadji L, Guichardant M, et al. Chronic treatment with myo-inositol reduces white adipose tissue accretion and improves insulin sensitivity in female mice. *J Nutr Biochem* 2013;24(2):457–66.
151. Kim M, Kim H. Accuracy of segmental multi-frequency bioelectrical impedance analysis for assessing whole-body and appendicular fat mass and lean soft tissue mass in frail women aged 75 years and older. *Eur J Clin Nutr* 2013;67(4):395–400.
152. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140(7):815–30.
153. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18(6):499–502.
154. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(10):3666–72.

155. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7):412–9.
156. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(7):2402–10.
157. Le Floch JP, Escuyer P, Baudin E, Baudon D, Perlemuter L. Blood glucose area under the curve. Methodological aspects. *Diabetes Care* 1990;13(2):172–5.
158. Stepto NK, Cassar S, Joham AE, Hutchison SK, Harrison CL, Goldstein RF, et al. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp. *Hum Reprod* 2013;28(3):777–84.
159. Fulghesu AM, Angioni S, Portoghesi E, Milano F, Batetta B, Paoletti AM, et al. Failure of the homeostatic model assessment calculation score for detecting metabolic deterioration in young patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006;86(2):398–404.
160. Graham EJ, Selgrade JF. A model of ovulatory regulation examining the effects of insulin-mediated testosterone production on ovulatory function. *J Theor Biol* 2017;416:149–60.
161. Galluzzo A, Amato MC, Giordano C. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18(7):511–8.
162. Mishra JS, More AS, Kumar S. Elevated androgen levels induce hyperinsulinemia through increase in Ins1 transcription in pancreatic beta cells in female rats. *Biol Reprod* 2018;98(4):520–31.
163. Eldar-Geva T, Shoham M, Rösler A, Margalioth EJ, Livne K, Meirow D. Subclinical hypothyroidism in infertile women: the importance of continuous monitoring and the role of the thyrotropin-releasing hormone stimulation test. *Gynecol Endocrinol* 2007;23(6):332–7.

164. Glintborg D, Altinok M, Mumm H, Buch K, Ravn P, Andersen M. Prolactin is associated with metabolic risk and cortisol in 1007 women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2014;29(8):1773–9.
165. Filho RB, Domingues L, Naves L, Ferraz E, Alves A, Casulari LA. Polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia are distinct entities. *Gynecol Endocrinol* 2007;23(5):267–72.
166. Tsikouras P, Spyros L, Manav B, Zervoudis S, Poiana C, Nikolaos T, et al. Features of Polycystic Ovary Syndrome in adolescence. *J Med Life* 2015;8(3):291–6.
167. Güdücü N, Kutay SS, Görmüş U, Kavak ZN, Dünder İ. High DHEAS/free testosterone ratio is related to better metabolic parameters in women with PCOS. *Gynecol Endocrinol* 2015;31(6):495–500.
168. Laven JSE, Mulders AGMJ, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BCJM. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(1):318–23.
169. Yetim A, Yetim Ç, Baş F, Erol OB, Çığ G, Uçar A, et al. Anti-Müllerian Hormone and Inhibin-A, but not Inhibin-B or Insulin-Like Peptide-3, may be Used as Surrogates in the Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents: Preliminary Results. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2016;8(3):288–97.
170. Merino PM, Villarroel C, Jesam C, López P, Codner E. New Diagnostic Criteria of Polycystic Ovarian Morphology for Adolescents: Impact on Prevalence and Hormonal Profile. *Horm Res Paediatr* 2017;88(6):401–7.
171. Yang Y, Ouyang N, Ye Y, Hu Q, Du T, Di N, et al. The predictive value of total testosterone alone for clinical hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2020;41(4):734–42.
172. Olszanecka-Glinianowicz M, Kuglin D, Dąbkowska-Huć A, Skałba P. Serum adiponectin and resistin in relation to insulin resistance and markers of hyperandrogenism in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;154(1):51–6.

173. Lecke SB, Mattei F, Morsch DM, Spritzer PM. Abdominal subcutaneous fat gene expression and circulating levels of leptin and adiponectin in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2011;95(6):2044–9.
174. Echiburú B, Pérez-Bravo F, Galgani JE, Sandoval D, Saldías C, Crisosto N, et al. Enlarged adipocytes in subcutaneous adipose tissue associated to hyperandrogenism and visceral adipose tissue volume in women with polycystic ovary syndrome. *Steroids* 2018;130:15–21.
175. Blouin K, Nadeau M, Perreault M, Veilleux A, Drolet R, Marceau P, et al. Effects of androgens on adipocyte differentiation and adipose tissue explant metabolism in men and women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;72(2):176–88.
176. Pasquali R, Oriolo C. Obesity and Androgens in Women. *Front Horm Res* 2019;53:120–34.
177. Nikolić M, Macut D, Djordjević A, Veličković N, Nestorović N, Bursać B, et al. Possible involvement of glucocorticoids in 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone-induced PCOS-like metabolic disturbances in the rat visceral adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 2015;399:22–31.
178. Luque-Ramírez M, Alvarez-Blasco F, Mendieta-Azcona C, Botella-Carretero JI, Escobar-Morreale HF. Obesity is the major determinant of the abnormalities in blood pressure found in young women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(6):2141–8.
179. Fulghesu A, Magnini R, Portoghesi E, Angioni S, Minerba L, Melis GB. Obesity-related lipid profile and altered insulin secretion in adolescents with polycystic ovary syndrome. *J Adolesc Health* 2010;46(5):474–81.
180. Phelan N, O'Connor A, Kyaw-Tun T, Correia N, Boran G, Roche HM, et al. Lipoprotein subclass patterns in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) compared with equally insulin-resistant women without PCOS. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(8):3933–9.
181. Coimbra S, Reis F, Nunes S, Viana S, Valente MJ, Rocha S, et al. The Protective Role of Adiponectin for Lipoproteins in End-Stage Renal Disease Patients: Relationship with Diabetes and Body Mass Index. *Oxid Med Cell Longev* 2019;2019:3021785.

182. Demirel F, Bideci A, Cinaz P, Camurdan MO, Biberoğlu G, Yesilkaya E, et al. Serum leptin, oxidized low density lipoprotein and plasma asymmetric dimethylarginine levels and their relationship with dyslipidaemia in adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67(1):129–34.
183. Bausenwein J, Serke H, Eberle K, Hirrlinger J, Jogschies P, Hmeidan FA, et al. Elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and of catalase activity in follicular fluid of obese women. *Mol Hum Reprod* 2010;16(2):117–24.
184. Spritzer PM, Lecke SB, Satler F, Morsch DM. Adipose tissue dysfunction, adipokines, and low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome. *Reproduction* 2015;149(5):R219-227.
185. Möhlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AFH, Schill T, et al. The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004;150(4):525–32.
186. Trolle B, Flyvbjerg A, Kesmodel U, Lauszus FF. Efficacy of metformin in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blinded, placebo-controlled cross-over trial. *Hum Reprod* 2007;22(11):2967–73.
187. Tagliaferri V, Romualdi D, Immediata V, De Cicco S, Di Florio C, Lanzone A, et al. Metformin vs myoinositol: which is better in obese polycystic ovary syndrome patients? A randomized controlled crossover study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2017;86(5):725–30.
188. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decreases in ovarian P450c17 alpha activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(12):4075–9.
189. la Marca A, Morgante G, Paglia T, Ciotta L, Cianci A, De Leo V. Effects of metformin on adrenal steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1999;72(6):985–9.
190. Cho K, Chung JY, Cho SK, Shin H-W, Jang I-J, Park J-W, et al. Antihyperglycemic mechanism of metformin occurs via the AMPK/LXR $\alpha$ /POMC pathway. *Sci Rep* 2015;5:8145.

191. Vrbíková J, Hill M, Stárka L, Cibula D, Bendlová B, Vondra K, et al. The effects of long-term metformin treatment on adrenal and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2001;144(6):619–28.
192. Soldat-Stanković V, Popović-Pejičić S, Stanković S, Prtina A, Malešević G, Bjekić-Macut J, et al. The effect of metformin and myoinositol on metabolic outcomes in women with polycystic ovary syndrome: role of body mass and adiponectin in a randomized controlled trial. *J Endocrinol Invest [Internet]* 2021 [cited 2021 Oct 20];Available from: <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01691-5>
193. Rotondi M, Cappelli C, Magri F, Botta R, Dionisio R, Iacobello C, et al. Thyroidal effect of metformin treatment in patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;75(3):378–81.
194. Kazerooni T, Dehghan-Kooshkghazi M. Effects of metformin therapy on hyperandrogenism in women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2003;17(1):51–6.
195. Grigoryan O, Absatarova J, Andreeva E, Melnichenko G, Dedov I. Effect of metformin on the level of anti-Mullerian hormone in therapy of polycystic ovary syndrome in obese women. *Minerva Ginecol* 2014;66(1):85–9.
196. Nascimento AD, Silva Lara LA, Japur de Sá Rosa-e-Silva AC, Ferriani RA, Reis RM. Effects of metformin on serum insulin and anti-Mullerian hormone levels and on hyperandrogenism in patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2013;29(3):246–9.
197. Romualdi D, Giuliani M, Cristello F, Fulghesu AM, Selvaggi L, Lanzone A, et al. Metformin effects on ovarian ultrasound appearance and steroidogenic function in normal-weight normoinsulinemic women with polycystic ovary syndrome: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Fertil Steril* 2010;93(7):2303–10.
198. Sonntag B, Götte M, Wülfing P, Schüring AN, Kiesel L, Greb RR. Metformin alters insulin signaling and viability of human granulosa cells. *Fertil Steril* 2005;84 Suppl 2:1173–9.

199. Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Tsianateli T, Bergiele A. Therapeutic effects of metformin on insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 1998;138(3):269–74.
200. Morin-Papunen LC, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK. Metformin therapy improves the menstrual pattern with minimal endocrine and metabolic effects in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1998;69(4):691–6.
201. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(1):139–46.
202. Hansen M, Palsøe MK, Helge JW, Dela F. The effect of metformin on glucose homeostasis during moderate exercise. *Diabetes Care* 2015;38(2):293–301.
203. Hamed HO. Role of adiponectin and its receptor in prediction of reproductive outcome of metformin treatment in patients with polycystic ovarian syndrome. *J Obstet Gynaecol Res* 2013;39(12):1596–603.
204. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, et al. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(8):2767–74.
205. Zulian A, Cancello R, Girola A, Gilardini L, Alberti L, Croci M, et al. In vitro and in vivo effects of metformin on human adipose tissue adiponectin. *Obes Facts* 2011;4(1):27–33.
206. Gagnon J, Sheppard E, Anini Y. Metformin directly inhibits ghrelin secretion through AMP-activated protein kinase in rat primary gastric cells. *Diabetes Obes Metab* 2013;15(3):276–9.
207. Elting MW, Korsen TJ, Bezemer PD, Schoemaker J. Prevalence of diabetes mellitus, hypertension and cardiac complaints in a follow-up study of a Dutch PCOS population. *Hum Reprod* 2001;16(3):556–60.

208. Lord JM, Flight IHK, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003;327(7421):951–3.
209. Kazerooni T, Shojaei-Baghini A, Dehbashi S, Asadi N, Ghaffarpasand F, Kazerooni Y. Effects of metformin plus simvastatin on polycystic ovary syndrome: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Fertil Steril* 2010;94(6):2208–13.
210. Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK, Tapanainen JS. Endocrine and metabolic effects of metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(9):3161–8.
211. Banaszewska B, Duleba AJ, Spaczynski RZ, Pawelczyk L. Lipids in polycystic ovary syndrome: role of hyperinsulinemia and effects of metformin. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194(5):1266–72.
212. Kjøtrød SB, Romundstad P, von Düring V, Sunde A, Carlsen SM. C-reactive protein levels are unaffected by metformin during pretreatment and an IVF cycle in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008;89(3):635–41.
213. Oncul M, Albayrak M, Sozer V, Karakus B, Gelisgen R, Karatas S, et al. Polycystic ovary syndrome and endothelial dysfunction: A potential role for soluble lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1. *Reprod Biol* 2020;20(3):396–401.
214. Burchardt P, Zawada A, Tabaczewski P, Naskręt D, Kaczmarek J, Marcinkaniec J, et al. Metformin added to intensive insulin therapy reduces plasma levels of glycated but not oxidized low-density lipoprotein in young patients with type 1 diabetes and obesity in comparison with insulin alone: a pilot study. *Pol Arch Med Wewn* 2013;123(10):526–32.
215. Nakhjavani M, Morteza A, Asgarani F, Mokhtari A, Esteghamati A, Khalilzadeh O, et al. Metformin restores the correlation between serum-oxidized LDL and leptin levels in type 2 diabetic patients. *Redox Rep* 2011;16(5):193–200.
216. Pradas I, Rovira-Llopis S, Naudí A, Bañuls C, Rocha M, Hernandez-Mijares A, et al. Metformin induces lipid changes on sphingolipid species and oxidized lipids in polycystic ovary syndrome women. *Sci Rep* 2019;9(1):16033.

217. Genazzani AD, Prati A, Santagni S, Ricchieri F, Chierchia E, Rattighieri E, et al. Differential insulin response to myo-inositol administration in obese polycystic ovary syndrome patients. *Gynecol Endocrinol* 2012;28(12):969–73.
218. Januszewski M, Issat T, Jakimiuk AA, Santor-Zaczynska M, Jakimiuk AJ. Metabolic and hormonal effects of a combined Myo-inositol and d-chiro-inositol therapy on patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Ginekol Pol* 2019;90(1):7–10.
219. Nestler JE, Unfer V. Reflections on inositol(s) for PCOS therapy: steps toward success. *Gynecol Endocrinol* 2015;31(7):501–5.
220. Ozay AC, Emekci Ozay O, Okyay RE, Cagliyan E, Kume T, Gulekli B. Different Effects of Myoinositol plus Folic Acid versus Combined Oral Treatment on Androgen Levels in PCOS Women. *Int J Endocrinol* 2016;2016:3206872.
221. Rice S, Pellatt L, Ramanathan K, Whitehead SA, Mason HD. Metformin inhibits aromatase via an extracellular signal-regulated kinase-mediated pathway. *Endocrinology* 2009;150(10):4794–801.
222. Morgante G, Musacchio MC, Orvieto R, Massaro MG, De Leo V. Alterations in thyroid function among the different polycystic ovary syndrome phenotypes. *Gynecol Endocrinol* 2013;29(11):967–9.
223. Le Donne M, Metro D, Alibrandi A, Papa M, Benvenga S. Effects of three treatment modalities (diet, myoinositol or myoinositol associated with D-chiro-inositol) on clinical and body composition outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019;23(5):2293–301.
224. Gabriely I, Ma XH, Yang XM, Atzmon G, Rajala MW, Berg AH, et al. Removal of visceral fat prevents insulin resistance and glucose intolerance of aging: an adipokine-mediated process? *Diabetes* 2002;51(10):2951–8.
225. D'Anna R, Santamaria A, Cannata ML, Interdonato ML, Giorgianni GM, Granese R, et al. Effects of a new flavonoid and Myo-inositol supplement on some biomarkers of cardiovascular risk in postmenopausal women: a randomized trial. *Int J Endocrinol* 2014;2014:653561.

226. Nascimento NRF, Lessa LMA, Kerntopf MR, Sousa CM, Alves RS, Queiroz MGR, et al. Inositol prevent and reverse endothelial dysfunction in diabetic rat and rabbit vasculature metabolically and by scavenging superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(1):218–23.
227. Hille B, Dickson EJ, Kruse M, Vivas O, Suh B-C. Phosphoinositides regulate ion channels. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851(6):844–56.
228. Barrese V, Stott JB, Baldwin SN, Mondejar-Parreño G, Greenwood IA. SMIT (Sodium-Myo-Inositol Transporter) 1 Regulates Arterial Contractility Through the Modulation of Vascular Kv7 Channels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020;40(10):2468–80.
229. Bahmani F, Karamali M, Shakeri H, Asemi Z. The effects of folate supplementation on inflammatory factors and biomarkers of oxidative stress in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;81(4):582–7.
230. Mierzecki A, Kłoda K, Jastrzębska M, Chełstowski K, Honczarenko K, Kozłowska-Wojciechowska M, et al. Is there an effect of folic acid supplementation on the coagulation factors and C-reactive protein concentrations in subjects with atherosclerosis risk factors? *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2012;66:696–701.
231. Jamal O, Aneni EC, Shaharyar S, Ali SS, Parris D, McEvoy JW, et al. Cigarette smoking worsens systemic inflammation in persons with metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* 2014;6:79.
232. Nordio M, Proietti E. The combined therapy with myo-inositol and D-chiro-inositol reduces the risk of metabolic disease in PCOS overweight patients compared to myo-inositol supplementation alone. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012;16(5):575–81.
233. Donà G, Sabbadin C, Fiore C, Bragadin M, Giorgino FL, Ragazzi E, et al. Inositol administration reduces oxidative stress in erythrocytes of patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2012;166(4):703–10.

## BIOGRAFIJA

Valentina Soldat-Stanković rođena je 08.03.1976. godine u Livnu. Osnovnu školu i Gimnaziju završila je u Glamoču. Medicinski Fakultet Univerziteta u Banjoj Luci upisala je 1994. godine, a diplomirala 2001. godine sa prosječnom ocjenom 9,49 tokom studija. Bila je student generacije i stipendista Ministarstva prosvjete Republike Srpske i dobitnica „Zlatne plakete“ Univerziteta u Banjoj Luci za postignuti uspjeh na osnovnom studiju. Od 2008. godine je asistent na Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci, a od 2017. godine u zvanju višeg asistenta.

Zaposlena je na Klinici za unutrašnje bolesti UKC Republike Srpske Banja Luka od 2004. godine. Specijalistički ispit iz interne medicine položila je u Banjoj Luci 2011. godine ocjenom 10, a subspecijalistički ispit iz endokrinologije u Beogradu 2014. godine ocjenom 10. U aprilu 2016. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu odbranila je subspecijalistički rad iz oblasti endokrinologije i stekla zvanje subspecijaliste endokrinologa.

Postdiplomski studij “Biomedicinska istraživanja” upisala je 2004. godine na Medicinskom fakultetu u Banjoj Luci i tokom studija imala prosjek ocjena 9,91. 25.04.2016. godine odbranila je magistarski rad pod naslovom „Procjena povezanosti glukozne tolerancije, nivoa inzulinske rezistencije i aterogenih faktora rizika u pacijenata sa koronarnom bolešću“ – uža naučna oblast interna medicina.

Autor je i koautor brojnih naučnih i stručnih radova objavljenih u međunarodnim i domaćim časopisima i učesnik velikog broja međunarodnih i domaćih naučnih i stručnih skupova i kurseva. Učestvovala je u nekoliko kliničkih studija kao glavni istraživač ili podistraživač. Posjeduje aktivno znanje engleskog i pasivno znanje ruskog jezika. Udata je i majka dvoje djece.

## **IZJAVA 1**

### **IZJAVA O AUTORSTVU**

**Izjavljujem**

**da je doktorska disertacija**

Naslov rada: "UTICAJ TERAPIJE INSULINSKIM SENZITAJZERIMA NA METABOLIČKI I HORMONSKI PROFIL ŽENA SA SINDROMOM POLICISTIČNIH JAJNIKA"

Naslov rada na engleskom jeziku: "THE EFFECT OF METFORMIN AND MYOINOSITOL ON METABOLIC AND HORMONAL OUTCOMES IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME"

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da doktorska disertacija, u cjelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni;
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci, 18.10.2021. godine

Potpis doktoranta

Valentina Soldat-Stanković

Valentina Soldat-Stanković

## **IZJAVA 2**

**Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom**

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom

**"UTICAJ TERAPIJE INSULINSKIM SENZITAJZERIMA NA METABOLIČKI I HORMONSKI PROFIL ŽENA SA SINDROMOM POLICISTIČNIH JAJNIKA"**

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

Doktorsku disertaciju sa svim prilozima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade
4. Autorstvo - nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo - bez prerade
6. Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci, 18.10.2021. godine

Potpis doktoranta

Valentina Soldat-Stanković

Valentina Soldat-Stanković

IZJAVA 3

## Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora Valentina Soldat-Stanković

# Naslov rada

## UTICAJ TERAPIJE INSULINSKIM SENZITAJZERIMA NA METABOLIČKI I HORMONSKI PROFIL ŽENA SA SINDROMOM POLICISTIČNIH JAJNIKA

Mentor Prof. dr Snježana Popović-Pejičić  
Komentor Prof. dr Đuro Macut

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predala za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci, 18.10.2021. godine

## Potpis doktoranta

Valentina Soldat-Stanković

Balletmutter Codgerin Elizabeth