

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Jolanta Anna Dardzińska

**„Ocena wpływu leczenia metforminą lub doustnym środkiem
antykonceptyjnym o właściwościach antyandrogennych
na wybrane wskaźniki ryzyka sercowo-naczyniowego kobiet
z zespołem policystycznych jajników”**

Rozprawa doktorska

Promotor: prof. dr hab. Bogdan Wyrzykowski

Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Praca finansowana ze środków MNiSW - nr projektu 2 P05E 077 30

Katedra Żywienia Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik: prof. dr hab. Wiesława Łysiak-Szydłowska

GDAŃSK 2009

*Pragnę serdecznie podziękować Promotorowi pracy
Panu Profesorowi Bogdanowi Wyrzykowskiemu
za opiekę i cenne wskazówki*

*Dziękuję również Dr. hab. med. Dominikowi Rachoniowi za wsparcie i pomoc
na różnych etapach wykonywania projektu*

*Szczególne podziękowania chciałabym przekazać
mojemu Mężowi i Rodzicom*

*- bez ich zachęty, towarzyszenia i cierpliwości
nie powstałaby niniejsza praca*

W SKRÓTY ZASTOSOWANE W PRACY

ACTH – kortykotropina

AES – (z ang. *Androgen Excess Society*) Towarzystwo ds. Nadmiaru Androgenów - od 2007 nazwa zmieniona na Towarzystwo ds. Nadmiaru Androgenów i PCOS (*Androgen Excess and PCOS Society*)

ANDROST – androstendion

ASRM– (z ang. *American Society for Reproductive Medicine*) Amerykańskie Towarzystwo Medycyny Rozrodu

AUC – (z ang. *area under curve*) pole pod krzywą

BMI– (z ang. *body mass index*) wskaźnik masy ciała

CA –(z ang. *cyproterone acetate*) octan cyproteronu

CI – (z ang. *confidence interval*) przedział ufności

CRP – (z ang. *C-reactive protein*) białko C-reaktywne

DBP– (z ang. *diastolic blood pressure*) rozkurczowe ciśnienie tętnicze

DHEA-S – siarczan dihydroepiandrosteronu

DM t.2 – cukrzyca typu 2

E1 – estron

E2– 17 β -estradiol

EE – etynyloestradiol

EE-CA – (z ang. *ethinyl estradiol and cyproterone acetate*) preparat złożony z etynyloestradiolu i octanu cyproteronu

ESHRE –(z ang. *European Society for Human Reproduction and Embryology*) Europejskie Towarzystwo Rozrodczości Człowieka i Embriologii

FAI – (z ang. *free androgen index*) wskaźnik wolnych androgenów

FFA– (z ang. *free fatty acids*) wolne kwasy tłuszczowe

FGIR– (z ang. *fasting glucose to insulin ratio*) wskaźnik glukozy na czczo do insuliny na czczo

FMD – (z ang. *flow-mediated dilation*) rozszerzalność tętnicy ramiennej indukowana przepływem

FSH – hormon folikulotropowy

HDL-C – (z ang. *high density lipoprotein cholesterol*) cholesterol frakcji lipoprotein o wysokiej gęstości

HOMA-IR – Homeostasis model assessment

ICAM-1– (z ang. *intercellular cell adhesion molecule*) cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1

IDF – (z ang. *International Diabetes Federation*) Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna

IL-10 – interleukina 10

IL-18 – interleukina 18

IL-6 – interleukina 6

IMT – (z ang. *intima-media thickness*) wskaźnik grubości kompleksu intima-media

IRS-1 – (z ang. *insulin receptor substrate 1*) substrat receptora insuliny 1

LDL-C – (z ang. *low density lipoprotein cholesterol*) cholesterol frakcji lipoprotein o niskiej gęstości

LH – hormon luteinizujący

LHRH – (z ang. *LH-releasing hormone*) hormon uwalniający LH, gonadoliberyna

MS – (z ang. *metabolic syndrome*) zespół metaboliczny

MCP-1– (z ang. *monocyte chemoattractant protein*) białko chemotaktyczne dla monocytów

NCEP-ATP III – (z ang. *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel*) Trzeci Raport Zespołu Specjalistów Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej

NIH – (z ang. *National Institutes of Health*) Narodowy Instytut Zdrowia

OC – (z ang. *oral contraceptives*) – doustne środki antykoncepcyjne

OGTT– (z ang. *oral glucose tolerance test*) doustny test obciążenia glukozą

PCO – (z ang. *polycystic ovaries*) jajniki policystyczne (wielotorbielowate)

PCOS – (z ang. *polycystic ovary syndrome*) zespół policystycznych jajników

PPAR γ – (z ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*) -receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów gamma

PRL – prolaktyna

17 α -OH- PROG – 17 α -OH- progesteron

PWV– (z ang. *pulse wave velocity*) prędkość fali tętna

QUICKI– (z ang. *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) ilościowy wskaźnik wrażliwości na insulinę

RBP-4– (z ang. *retinol binding protein*) białko wiążące retinol

SBP– (z ang. *systolic blood pressure*) skurczowe ciśnienie tętnicze

SEM – (z ang. *standard error of the mean*) błąd standardowy średniej

SHBG– (z ang. *sex hormone binding globulin*) białko wiążące hormony płciowe

sVCAM-1– (z ang. *soluble vascular cell adhesion molecule*) rozpuszczalna forma cząsteczki adhezyjnej komórek śródbłonna

TAG – triglicerydy

T calk. – testosteron całkowity

TNF– (z ang. *tumor necrosis factor*) czynnik martwicy nowotworów

TSH – hormon tyreotropowy

VLDL-C – (z ang. *very low density lipoprotein cholesterol*) cholesterol frakcji lipoprotein o bardzo małej gęstości

WBC – (z ang. *white blood cell*) leukocytoza

SPIS TREŚCI

1.	WSTĘP.....	9
1.1.	Zespół policystycznych jajników (PCOS)	9
1.1.1	Definicja, epidemiologia, diagnostyka.....	9
1.1.2	Obraz kliniczny PCOS	13
1.1.3	Znaczenie insulinooporności w patogenezie PCOS.....	16
1.1.4	Leczenie PCOS	16
1.2.	Rola tkanki tłuszczowej w rozwoju chorób serca i naczyń.....	17
2.	CELE PRACY	25
3.	MATERIAŁ I METODY BADAWCZE.....	26
3.1	Materiał badawczy	26
3.2.	Protokół badania.....	29
3.2	Metody.....	31
3.2.1	Pomiary antropometryczne	31
3.2.2	Ocena nasilenia hirsutyizmu	31
3.2.3	Podstawowe oznaczenia laboratoryjne	32
3.2.4	Ocena insulinooporności/insulinowrażliwości	32
3.2.5	Uzyskiwanie surowic do oznaczeń cytokin	33
3.2.6	Oznaczanie poziomów cytokin	33
3.2.7	Analiza statystyczna uzyskanych danych	37
4.	WYNIKI.....	39
4.1	Charakterystyka badanych kobiet z rozpoznanym PCOS.....	39
4.1.1	Charakterystyka kliniczna.....	39
4.1.2	Dane antropometryczne	41
4.1.3	Badania hormonalne	42
4.1.4	Gospodarka węglowodanowa	44
4.1.5	Porównanie podgrup pacjentek z PCOS z prawidłową masą ciała, nadwagą i otyłością.....	47
4.2	Ocena wpływu czteromiesięcznej terapii na zmienne antropometryczne, hormonalne i metaboliczne	52
4.2.1	Tolerancja leczenia	52
5.	DYSKUSJA	66

6.	WNIOSKI	78
7.	Streszczenie (abstract).....	79
8.	Literatura.....	82
9.	Aneks	106

1. WSTĘP

Zespół policystycznych jajników (*polycystic ovary syndrome, PCOS*) jest najczęstszym zaburzeniem endokrynnym u kobiet w wieku rozrodczym [1]. Szacuje się, że występuje u 5 do 10 % kobiet w tym okresie życia [2]. Zaburzenia miesiączkowania i obniżające samoocenę pacjentek cechy hiperandrogenizacji pojawiają się już w okresie pokwitania. W późniejszych latach poważnym problemem staje się leczenie niepłodności. Obecnie wiadomo, że już w momencie rozpoznania PCOS objawom endokrynologicznym mogą towarzyszyć zaburzenia metaboliczne. Najczęstszym z nich jest otyłość. Inne, o których pacjentki często nie wiedzą, to zmniejszona wrażliwość na insulinę i wynikające z niej zaburzenia tolerancji glukozy oraz dyslipidemia. Ponieważ pojawiają się one u kobiet z PCOS nierzadko już w bardzo młodym wieku, wydaje się, że rozpoznanie tego zespołu może oznaczać wystąpienie w przyszłości podwyższonego ryzyka chorób serca i naczyń.

1.1. Zespół policystycznych jajników (PCOS)

1.1.1 Definicja, epidemiologia, diagnostyka

W 1935 r. Stein i Leventhal przedstawili zespół objawów obejmujący wtórny brak miesiączki i w konsekwencji niepłodność, a także otyłość i męski typ owłosienia. Ten obraz kliniczny powiązali ze stwierdzonym w badaniu anatomopatologicznym znacznym powiększeniem jajników i pogrubieniem ich osłonki. Dziś uznajemy zespół Stein–Leventhala za skrajną postać zespołu policystycznych jajników, czyli różnorodnych i zmiennie nasilonych objawów wynikających z nadmiernej produkcji androgenów. Czasem, niezupełnie słusznie, określa się PCOS jako czynnościowy hiperandrogenizm pochodzenia jajnikowego. Najczęstszymi konsekwencjami zwiększonej syntezy androgenów w jajniku i poza nim są nieprawidłowe krwawienia z dróg rodnych oraz hirsutyzm. Należy podkreślić, że obraz kliniczny PCOS może się bardzo różnić u poszczególnych kobiet – od niewielkich zaburzeń miesiączkowania bez widocznego hiperandrogenizmu do tych opisanych przez Steina i Leventhala. Zmiany w obrębie gonad

o charakterze „zwyrodnienia drobnotorbielkowego” nie są nieodłączną cechą PCOS. Obraz jajników policystycznych może występować również u prawidłowo miesiączkujących kobiet [3].

Rozpowszechnienie PCOS i nasilenie objawów zespołu zależy od czynników etnicznych. Zespół policystycznych jajników dotyczy co najmniej 5 %, a w populacjach o dużym rozpowszechnieniu otyłości nawet 10 % kobiet w wieku rozrodczym [1, 2, 4]. Jest to więc najczęstsze zaburzenie endokrynne w tej grupie. W patogenezie PCOS istotne znaczenie mają czynniki genetyczne. Postuluje się dziedziczenie wielogenowe. Obserwuje się rodzinne występowanie objawów PCOS u kobiet, natomiast u braci pacjentek zaobserwowano tendencję do łysienia dwuskroniowego przed 30. rokiem życia [5]. Wiele danych wskazuje na większe ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 u rodziców, rodzeństwa oraz dzieci kobiet z PCOS [6, 7].

Rozpoznanie tego tak częstego zespołu jest niestety trudne i kosztochłonne. Nie ma jednej powszechnie akceptowanej definicji. Na specjalnie zorganizowanym posiedzeniu Narodowego Instytutu Zdrowia (*National Institutes of Health, NIH*) w Stanach Zjednoczonych w 1990 r. nie doszło do konsensusu. Uzgodniono jedynie, że zasadniczymi cechami są zaburzenia miesiączkowania (*oligo- lub amenorrhea*) oraz kliniczny lub/i laboratoryjny hiperandrogenizm. Zespół policystycznych jajników można rozpoznać po wykluczeniu wszystkich innych przyczyn prowadzących do powyższych zaburzeń. W praktyce klinicznej różnicowany jest z: hiperprolaktynemią, przerostem kory nadnerczy, guzem produkującym androgeny, zespołem Cushinga i niedoczynnością tarczycy. Szacuje się, że u około 20 % pacjentek z PCOS może współistnieć niewielka hiperprolaktynemia. Różnicowanie z guzem wirylizującym jajnika lub nadnerczy i zespołem Cushinga ułatwia dokładne zebranie wywiadu odnośnie początku i dynamiki narastania zaburzeń. Razem z wnikliwym badaniem fizykalnym umożliwia to ograniczenie liczby koniecznych badań laboratoryjnych. Obraz kliniczny nie pozwala zwykle natomiast odróżnić PCOS od wrodzonego późno ujawniającego się przerostu kory nadnerczy. Jego wykluczenie wymaga oznaczenia stężeń 17α -OH-progesteronu (17α -OH-PROG). Hiperandrogenizm i zaburzenia miesiączkowania mogą również wystąpić w przebiegu niedoczynności tarczycy. Oznaczanie poziomu hormonu tyreotropinowego (TSH) w surowicy powinno

należą do badań rutynowych w tej grupie pacjentek. Do rozpoznania zespołu nie jest natomiast konieczne określenie ilorazu stężeń hormonu luteinizującego (LH) do folikulotropowego (FSH) w surowicy. Zwiększona aktywność podwzgórzowego generatora pulsów hormonu uwalniającego LH (*LH-releasing hormone, LHRH*), indukująca nadmierną przysadkową produkcję LH, uznawane były za typowe cechy PCOS. Jednak w badaniu Fausera i wsp. tylko połowa pacjentek z ultrasonograficznym obrazem jajników policystycznych (PCO) miała podwyższone wartości LH i jedynie 43 % kobiet ze zwiększonymi stężeniami LH miało PCO [8].

Typowe cechy ultrasonograficzne zespołu policystycznych jajników to obecność co najmniej 12 pęcherzyków położonych podkorowo o średnicy 2-9 mm [9]. Objętość jajnika wynosi zwykle ponad 10 ml wskutek zwiększenia ilości zrębu. Obraz ten nie jest patognomoniczny dla PCOS. Jest on następstwem anowulacji i występuje także w innych endokrynopatiach (wrodzonym przeroście kory nadnerczy, braku miesiączki pochodzenia podwzgórzowo-przysadkowego, zespole Cushinga, niedoczynności tarczycy). Zmiany te można również zaobserwować u kobiet przyjmujących doustne środki antykoncepcyjne (*oral contraceptives, OC*). Występują one także u 25 % zdrowych regularnie miesiączkujących kobiet [3]. W kryteriach NIH obraz policystycznych gonad nie jest konieczny do rozpoznania zespołu. Wiadomo, że tylko 75 % pacjentek z PCOS spełnia cechy ultrasonograficzne PCO [3]. W roku 2003 w Rotterdamie na spotkaniu ekspertów Europejskiego Towarzystwa Rozrodczości Człowieka i Embriologii (*European Society for Human Reproduction and Embryology, ESHRE*) oraz Amerykańskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu (*American Society for Reproductive Medicine, ASRM*) zmieniono zasady diagnozowania PCOS. Przyjęto, że zespół można rozpoznać, gdy spełnione są przynajmniej dwa spośród trzech kryteriów:

- Rzadka owulacja lub brak owulacji
- Kliniczne i/lub biochemiczne objawy hiperandrogenizmu
- Obecność wielotorbielowatych jajników w ultrasonografii

po wykluczeniu innych przyczyn wyżej wymienionych objawów. Warto podkreślić, że taka definicja PCOS spowodowała „dołączenie” do grupy pacjentek z PCOS kobiet o mniej nasilonych zaburzeniach endokrynologicznych i metabolicznych.

Utrudniło to interpretację wyników badań i tworzenie ewentualnych zaleceń postępowania z zespołem.

W 2006 r. międzynarodowe Towarzystwo ds. Nadmiaru Androgenów (*Androgen Excess Society, AES*) po ponownej analizie cech epidemiologicznych i fenotypowych PCOS zaproponowało pośrednie rozwiązanie. Za niezbędne do rozpoznania PCOS uznano wszystkie poniższe kryteria:

- Hirsutyzm i/lub hiperandrogenemię
- Oligo-anowulację i/lub policystyczne jajniki
- Wykluczenie innych przyczyn nadmiaru androgenów

Różnice pomiędzy kolejnymi definicjami zespołu i różnorodne fenotypy PCOS przedstawiono w Tabeli 1.[10]. Najbardziej charakterystyczne cechy fenotypowe PCOS to połączenie hiperandrogenizmu klinicznego lub/i laboratoryjnego (H), zaburzeń miesiączkowania o typie *oligo-* i *amenorrhea* (O) z obrazem policystycznych jajników (P) lub bez niego, czyli fenotyp PHO (jajniki policystyczne, hiperandrogenizm, oligoanowulacja) lub HO (hiperandrogenizm, oligoanowulacja).

Tabela 1. Możliwe fenotypy zespołu policystycznych jajników z uwzględnieniem zmieniających się uzgodnień definicji zespołu [10].

	Potencjalne fenotypy															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
Hiperandrogenemia	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-
Hirsutyzm	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Oligoanowulacja	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Policystyczne jajniki	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Kryteria NIH 1990	√	√	√	√	√	√										
Kr. Rotterdam 2003	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√						
Kryteria AES 2006	√	√	√	√	√	√	√	√	√							

+ ,obecność; - ,nieobecność'

Istnieją wątpliwości, czy u kobiety z obrazem policystycznych jajników i cechami oligo- lub anowulacji, ale bez hiperandrogenizmu można rozpoznać PCOS. Według

ekspertów *AES* w chwili obecnej nie ma pewnych dowodów na istnienie fenotypu PCOS bez jawnego nadmiaru androgenów. Nie można oczywiście wykluczyć kolejnych zmian definicji zespołu w przyszłości [10].

1.1.2 *Obraz kliniczny PCOS*

Hirsutyzm i inne objawy androgenizacji

Hirsutyzm to występowanie u kobiet owłosienia typu ostatecznego, czyli włosów grubych i pigmentowanych, w miejscach nieprawidłowych (nad- i podbrzusze, plecy, klatka piersiowa). Najczęstszą (90 %) przyczyną tego krępującego dla wielu kobiet problemu jest właśnie PCOS. Inne następstwa hiperandrogenemii to: trądzik, łysienie, łojotok, przetłuszczanie się skóry i wypadanie włosów. Objawy te prawie zawsze mają początek w okresie pokwitania lub krótko po nim, a ich dynamika jest zwykle niewielka. Zdarza się jednak, że dopiero znaczny wzrost masy ciała ujawnia cechy fenotypowe PCOS u osoby genetycznie predysponowanej [11]. W badaniu przedmiotowym i podmiotowym pacjentki należy ustalić, czy występują cechy wirylizacji (obniżenie barwy głosu, przyrost masy mięśniowej, zanik piersi, wzrost libido, przerost łechtaczki >10 mm) i jaka jest ich dynamika. Późny początek objawów androgenizacji i ich nagłe narastanie wymaga wykluczenia obecności guza wiryliżującego. Objawy wirylizacji nie są bowiem typowe dla PCOS. Bardzo rzadko mogą wystąpić one w skrajnie ciężkiej postaci PCOS z dużym przerostem zrębu jajników (*hyperthecosis*).

U około jednej trzeciej pacjentek z PCOS pomimo podwyższenia poziomu testosteronu w surowicy hirsutyzm nie występuje. Wynika to z osobniczych i etnicznych różnic w aktywności 5α -reduktazy, enzymu konwertującego testosteron do bardziej aktywnego dihydrotestosteronu. Gonady kobiet z PCOS poza testosteronem produkują także w dużych ilościach jego prekursor – androstendion. Związek ten jest również, razem z siarczanem dihydroepiandrosteronu (DHEA-S), produkowany w nadnerczach. Czynnościowy hiperandrogenizm w PCOS nie jest więc jedynie pochodzenia jajnikowego. Wydaje się, że wspólną przyczyną molekularną nadmiernej produkcji androgenów w jajnikach i nadnerczach może być zwiększona aktywność enzymatyczna kluczowego dla tej syntezy cytochromu P450c17 α .

Anowulacja i niepłodność

Zespół policystycznych jajników jest jedną z najczęstszych przyczyn anowulacji [12]. Stwierdzany w badaniu histopatologicznym jajnika obraz licznych drobnych pęcherzyków antralnych zlokalizowanych podkorowo sugeruje nieprawidłową folikulogenezę. Obecnie uważa się, że zaburzenia rozwoju pęcherzyka jajnikowego mogą występować przed etapem zależnym od FSH [13, 14].

Następstwem anowulacji w PCOS jest niepłodność. W zespole tym zaobserwowano także zwiększenie częstości poronień [15] oraz występowania cukrzycy ciążowej [16, 17] i nadciśnienia [15, 17]. Prawdopodobnie u kobiet z PCOS częściej dochodzi także do opóźnionego wzrastania wewnątrzmacicznego płodu oraz porodu przedwczesnego [15, 17]. Istnieją dane o problemach z prawidłową laktacją [18].

Nieregularne krwawienia maciczne i rozrost endometrium

Poważną konsekwencją anowulacji jest również brak przeciwstawnego do estrogenów działania progesteronu. Prowadzi to do przewlekłego hiperestrogenizmu. Jest on dodatkowo nasilany przez przemiany dużych ilości krążącego androstendionu do estronu (E1) i estradiolu (E2). Skutkiem zaburzenia proporcji steroidów płciowych są krwawienia czynnościowe o nieprzewidywalnym rytmie i zmiennej, czasami znacznej obfitości (*hypermenorrhea*).

Zaburzenia miesiączkowania obserwuje się od początku pokwitania i zazwyczaj są to krwawienia występujące rzadziej niż co 35 dni (*oligomenorrhea*). Prawie 90 % przyczyn rzadkiego miesiączkowania to właśnie PCOS. Długość cyklu mieszcząca się w granicach normy, stwierdzana u około 20 % pacjentek z PCOS, nie wyklucza braku owulacji. Zespół policystycznych jajników jest też w około jednej trzeciej przypadków przyczyną wtórnego braku miesiączki przez ponad 6 miesięcy (*amenorrhea secundaria*).

Całkowity brak złuszczenia endometrium przy ciągłym proliferacyjnym działaniu estrogenów stwarza zagrożenie rozrostem błony śluzowej macicy. Otyłość z hiperinsulinemią są czynnikami ryzyka raka endometrium. Istnieją dane o wzroście ryzyka tego nowotworu wśród kobiet z PCOS i wcześniejszym wieku zachorowań [19], ale inni autorzy nie potwierdzili tej obserwacji [20, 21]. W związku z konwersją estronu do estradiolu w tkankach estrogenowrażliwych

sugeruje się też większe zagrożenie rakiem piersi wśród kobiet z PCOS. Dane na ten temat są nie jednoznaczne [21].

Depresja, obniżenie jakości życia

Objawy PCOS (nieregularne miesiączki, trądzik, problemy z zajściem w ciążę, otyłość) mogą negatywnie wpływać na jakość życia i zdrowie psychiczne kobiety. W badaniu pacjentek z PCOS przy użyciu kwestionariusza SF-36 (z ang. *short-form, 36 questions*) stwierdzono znaczne obniżenie jakości życia w wymiarze fizycznym, emocjonalnym i społecznym. Nie uległo to zmianie nawet po redukcji masy ciała [22-24]. Wśród kobiet z PCOS obserwuje się także zwiększoną zachorowalność na depresję [25-27]. Postuluje się konieczność regularnej oceny stanu psychicznego pacjentek [28].

Zaburzenia metaboliczne

Na kilka lat przed pierwszym opisem PCOS przez Steina i Leventhala, Achard i Thiers zaobserwowali współistnienie nadmiaru androgenów i zaburzeń płodności z zaburzeniami metabolicznymi i przedstawili je jako „cukrzycę brodatych kobiet” (*diabète des femmes à barbe*). Późniejsze doniesienia potwierdziły częstsze niż w populacji ogólnej występowanie zaburzeń gospodarki węglowodanowej u kobiet z PCOS. Nietolerancję glukozy i cukrzycę typu 2 (DM t. 2) stwierdzono u odpowiednio 31 % i 7.5 % uczestniczek dużego badania prospektywnego przeprowadzonego w Stanach Zjednoczonych [29]. Szacuje się, że około 50 % kobiet z PCOS jest otyłych, zwykle jest to otyłość typu brzuszego [30]. Należy podkreślić, że prawidłowa wartość wskaźnika masy ciała (*body mass index, BMI*) nie wyklucza tendencji do zwiększonego gromadzenia tkanki tłuszczowej w obrębie jamy brzusznej [31-33]. U pacjentek z PCOS stwierdza się zaburzenia lipidowe szczególnie sprzyjające miażdżycy (hipertriglicydemia, obniżony poziom cholesterolu HDL, zwiększony udział frakcji tzw. małych gęstych LDL) [34-36]. Obserwuje się także wyższe wartości ciśnienia tętniczego niż w populacji ogólnej [37-38]. Profil tych zaburzeń jest bardzo podobny do stwierdzanych w zespole metabolicznym (*metabolic syndrome, MS*) [39], który zyskał miano śmiertelnego kwartetu [40]. Niektórzy autorzy uważają nawet PCOS za wczesny wariant MS

[41-42]. Stworzone przez zespół A. Dunaif określenie „zespół XX” podkreśla wagę możliwych konsekwencji sercowo-naczyniowych PCOS [43].

1.1.3 Znaczenie insulinooporności w patogenezie PCOS

Od blisko trzydziestu lat wiadomo, że insulinooporność i hiperinsulinemia odgrywają istotną rolę w powstawaniu hiperandrogenizmu w PCOS [44]. Hiperinsulinemia zwiększa aktywność podwzgórzowego generatora pulsów LHRH pośrednio nasilając jajnikową produkcję androstendionu. Po drugie, wysokie poziomy insuliny zmniejszają wątrobową syntezę białka wiążącego hormony płciowe (*sex hormone binding globulin, SHBG*), co podnosi stężenia biodostępnego testosteronu. Po trzecie, insulina może też zwiększać produkcję androgenów w jajniku w sposób bezpośredni. Molekularnym podłożem insulinooporności jest nadmierna fosforylacja serynowa podjednostki β receptora insulinowego. Zaobserwowano, że fosforylacja serynowa cytochromu P450c17 α może nasilać aktywność enzymów syntetyzujących androgeny w jajniku (17,20-liazy). Być może więc insulinooporność i hiperandrogenizm wynikają ze wspólnego defektu genetycznego prowadzącego do zwiększonej aktywności kinazy serynowej [45]. Warto podkreślić, że zjawisko promującego wpływu insuliny na jajnikową produkcję androgenów nie występuje u kobiet zdrowych z porównywalnymi stężeniami insuliny [46].

1.1.4 Leczenie PCOS

Leczenie pacjentek z PCOS jest uzależnione od indywidualnych oczekiwań kobiety. Powinno ono także uwzględniać ocenę czynników ryzyka chorób serca i naczyń i profilaktykę tych schorzeń. Doustne środki antykoncepcyjne zawierające etynyloestradiol (EE), hamując nadmierne wydzielanie LH i zwiększając syntezę SHBG w wątrobie, skutecznie zmniejszają objawy hiperandrogenemii. Są one także stosowane w leczeniu nieregularnych obfitych krwawień czynnościowych. Indywidualizacja leczenia i uwzględnianie przeciwwskazań zmniejsza ryzyko działań niepożądanych OC do minimum. Nadal jednak nie ma pewności, że wieloletnie ich stosowanie u kobiet z PCOS jest bezpieczne i nie nasili istniejących już zaburzeń metabolicznych, w tym insulinooporności. U kobiet z hirsutyzmem o szczególnie dużym nasileniu obok OC można zastosować również

leki o działaniu antagonistycznym do receptora androgenowego, najczęściej spironolakton. Warto nadmienić, że cyproteron i flutamid nie zostały zarejestrowane w Stanach Zjednoczonych. U pacjentek bez hirsutyzmu regularne złuszczenie endometrium zapewnia cykliczne podawanie samego gestagenu.

U otyłych pacjentek z PCOS zmniejszenie masy ciała łagodzi objawy hiperandrogenizmu i obniża poziom testosteronu w surowicy [47]. Wykazano, że redukcja masy ciała o 5 % przywraca owulację i prawidłowe krwawienia [48]. Powyższe obserwacje zaowocowały wprowadzeniem do terapii PCOS leków uwrażliwiających na działanie insuliny. Po raz pierwszy zastosowano je w indukcji owulacji [49], a obecnie ustala się ich miejsce w profilaktyce DM t. 2. Podstawą terapii przeciwdziałającej zaburzeniom metabolicznym powinno być jednak utrzymywanie lub przywrócenie prawidłowej masy ciała poprzez modyfikację stylu życia (regularny umiarkowany wysiłek fizyczny razem z odpowiednią dietą). Jest to metoda skuteczniejsza od farmakoterapii w zapobieganiu powikłaniom sercowo-naczyniowym w populacji ogólnej [50], ale niełatwa do wdrożenia.

1.2. Rola tkanki tłuszczowej w rozwoju chorób serca i naczyń

Otyłość jest uznanym czynnikiem ryzyka DM t. 2, choroby wieńcowej i udaru mózgu. Od wielu lat trwają badania nad znaczeniem adipocytów w patogenezie tych schorzeń. Podstawową, dawno poznaną funkcją tkanki tłuszczowej jest wychwytywanie nadmiaru lipidów i ich uwalnianie w sytuacjach niedoboru energii. W prawidłowo funkcjonującej tkance tłuszczowej podskórnej adipocyty osiągając duże rozmiary produkują jednocześnie czynniki proliferacyjne dla preadipocytów. W ten sposób zawsze istnieje duża pula komórek mniejszych, bardziej wrażliwych na działanie insuliny. Pełnią one rolę buforu chroniącego inne tkanki przed toksycznym wpływem odkładania się nadmiaru lipidów [51]. Wskutek hiperalimentacji, siedzącego trybu życia i predyspozycji genetycznych adipocyty przerastają i ulegają zmianie ich właściwości. Zmniejsza się wrażliwość na insulinę i zdolności buforujące. Zahamowana zostaje także adipogeneza, a dojrzałe adipocyty nie ulegają apoptozie. Czynniki regulujące i modulujące złożone mechanizmy adipogenezy i lipolizy w zdrowiu i otyłości nie są w pełni poznane. Wiemy, że tkanka tłuszczowa jest miejscem działania hormonów płciowych oraz odgrywa istotną rolę w ich enzymatycznych przemianach. Produkuje także liczne

substancje działające nie tylko auto- i parakrynnie, ale też endokrynnie. Produkty adipocytów i komórek immunokompetentnych tkanki tłuszczowej zwane adipokinami poprzez ośrodkowy układ nerwowy wpływają na równowagę energetyczną ustroju, mechanizmy sytości, głodu, regulację płodności. Oddziałują również na równowagę hormonalną, odporność, hematopoezę, angiogenezę, procesy krzepnięcia [52]. Adipokiny wywierają też wpływ na śródbłonek naczyń, kontrolę ciśnienia tętniczego, metabolizm glukozy i lipidów. Być może modulują również funkcję komórek β trzustki [53]. Tkanka tłuszczowa jest zatem niezwykle ważnym gruczołem endokrynnym [53, 54]. Istnieje coraz więcej dowodów, że rozproszone w różnych regionach adipocyty i ich produkty mają także udział w patogenezie wielu schorzeń o mechanizmie zapalnym: reumatoidalnym zapaleniu stawów, ostrym zapaleniu trzustki, niealkoholowym stłuszczeniu wątroby, chorobie Crohna, oftalmopatii Graves-Basedowa [52]. Leki blokujące działanie cytokin prozapalnych: TNF (*tumor necrosis factor*), interleukin 1 i 6 -znalazły zastosowanie w terapii tych schorzeń lub są w fazie badań.

Znaczenie tkanki tłuszczowej rośnie w sytuacjach jej nadmiaru lub niedoboru. Dotyczy to szczególnie tkanki tłuszczowej trzewnej. Nadmierne gromadzenie się jej w obrębie jamy brzusznej wiąże się z insulinoopornością i zwiększonym ryzykiem zachorowania na cukrzycę typu 2 (DM t. 2) [55]. Jednym z mechanizmów upośledzających działanie insuliny jest zwiększona ilość wolnych kwasów tłuszczowych (*free fatty acids, FFA*) - efekt wzrostu aktywności lipaz w tkance tłuszczowej trzewnej. Nadmiar FFA w wątrobie działa przeciwstawnie do insuliny (indukuje glukoneogenezę, zwiększa produkcję lipoprotein o bardzo niskiej gęstości, VLDL). Wolne kwasy tłuszczowe zmniejszając klirens insuliny nasilają hiperinsulinemię. Po przejściu do krążenia systemowego FFA mogą utrudniać przekaźnictwo wewnątrzkomórkowe sygnału insuliny w mięśniach szkieletowych, co określa się mianem lipotoksyczności. Wolne kwasy tłuszczowe prawdopodobnie mają też udział w postępującej dysfunkcji komórek β trzustki, co prowadzi do rozwoju cukrzycy u osób predysponowanych [56].

Ostatnio jest coraz więcej dowodów, że insulinooporność tkanek jest dodatkowo modulowana przez adipokiny, a ważnym ogniwem łączącym otyłość i cukrzycę jest przewlekły stan zapalny [57-59]. Szczególnie aktywna pod względem wydzielniczym jest tkanka tłuszczowa trzewna [60]. W sytuacji jej nadmiaru

obserwuje się dysregulację produkcji cytokin i przewagę czynników prozapalnych (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, inhibitora tkankowego aktywatora plazminogenu 1, leptyny, rezystyny, białka chemotaktycznego dla monocytów 1) nad przeciwdziałającymi zapaleniu (adiponektyna, IL-10, antagonist receptoru IL-1) [61]. Ostatnio ciekawe doświadczenie *in vitro* pokazało bezpośrednio, że wielkość adipocytu determinuje sekrecję cytokin i komórki bardzo duże produkują więcej substancji prozapalnych niż średnie [62]. Można mówić o „nadaktywności prozapalnej”, która ma miejsce w otyłości [61]. Potwierdza to zaobserwowane u otyłych nacieczenie tkanki tłuszczowej monocytami/makrofagami – ich odsetek może wynosić od 10 do nawet 50 % [63, 64]. Odsetek ten dodatnio koreluje z rozmiarem adipocytów i stopniem otyłości. Są dowody, że to właśnie makrofagi rezydujące w tkance tłuszczowej, a nie adipocyty są głównym źródłem czynników prozapalnych [63, 65, 66]. Ich aktywność podtrzymuje przewlekły stan zapalny [54]. Uwalniane przez nie cytokiny zwiększają ilość FFA trafiających do wątroby z tkanki tłuszczowej trzewnej, co redukuje insulinowrażliwość. Substancje działające prozapalnie (IL-6 i TNF) obniżają wrażliwość na insulinę również w sposób bezpośredni [67].

Pod koniec poprzedniego stulecia udowodniono, że komórki immunokompetentne są obecne również w blaszkach miażdżycowych [68]. Potwierdzono związek nadmiernej ekspresji czynników prozapalnych z chorobami układu sercowo-naczyniowego. Okazało się, że liczba leukocytów w krwi obwodowej wiąże się z ryzykiem rozwoju DM t. 2 [69], choroby wieńcowej i przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych [70]. Stężenia białka C-reaktywnego (*C-reactive protein, CRP*) korelują z ryzykiem zachorowania na DM t. 2, wystąpienia zawału serca i nagłego zgonu sercowego [71-73]). Prace zespołu Ridkera wykazały związek między zagrożeniem cukrzycą i ostrym incydem wieńcowym, a stężeniami IL-6 w surowicy [71, 73]. Potwierdzono, że zmiany stężeń adipokin mogą wskazywać na zwiększone ryzyko rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego [58, 59]. Poniżej przedstawiono znaczenie wybranych adipokin w powstawaniu insulinoporności, dysfunkcji śródbłonna i miażdżycy.

Czynnik martwicy nowotworów (TNF)

Jest cytokiną prozapalną produkowaną przede wszystkim przez aktywowane monocyty/makrofagi. Wykazano, że ważnym miejscem produkcji i działania TNF są

również adipocyty. Poza działaniem prozapalnym, TNF wpływa także na metabolizm. Hamuje aktywność lipazy lipoproteinowej zwiększając produkcję triglicerydów, wpływa na procesy lipolizy zwiększając uwalnianie FFA, hamuje adipogenezę, determinuje ostateczny rozmiar adipocytów [51]. Jego produkcja i znaczenie patofizjologiczne znacznie rośnie wraz z rozwojem otyłości. Wyraźny staje się wtedy efekt osłabienia działania insuliny poprzez indukcję fosforylacji serynowej substratu IRS-1 (*insulin receptor substrate 1*) [67]. Podanie substancji blokujących działanie TNF u otyłych i chorych z DM t. 2 nie poprawiło jednak insulinowrażliwości [74, 75]. Może to wynikać z faktu, że TNF jest przede wszystkim cytokiną auto- i parakrynną. Nadmierna ekspresja TNF w otyłości prawdopodobnie odpowiada za obniżone stężenia wykazującej ochronne właściwości adiponektyny [76, 77]. Czynnikiem martwicy nowotworów zwiększa też syntezę endoteliny 1, leptyny, angiotensyny II, cząsteczek adhezyjnych i czynników chemotaktycznych dla monocytów nasilając rozwój miażdżycy.

Interleukina-6 (IL-6)

Jest cytokiną istotną w patofizjologii wielu schorzeń i najsilniejszym znanym stymulatorem produkcji białek ostrej fazy (CRP, fibrynogen, haptoglobina) w wątrobie. Auto- i parakrynnie wydzielanie IL-6, podobnie jak TNF, pełni ważną rolę w metabolizmie adipocytów. Nadmierna ekspresja TNF i IL-6, rosąca wraz ze zwiększeniem masy ciała, hamuje produkcję adiponektyny i innych cytokin przeciwzapalnych, a nasila syntezę endoteliny 1, peptydów układu renina-angiotensyna-aldosteron i innych substancji promujących zapalenie (cząsteczek adhezyjnych, czynników chemotaktycznych dla makrofagów). W przeciwieństwie do TNF, IL-6 jest jedną z najbardziej endokrynnych cytokin. Znaczna jej część w krążeniu pochodzi z tkanki tłuszczowej [78] i jest produkowana przez naciekającą ją makrofagi i monocyty [79]. U osób otyłych stężenia IL-6 w żyłach wrotnej są znacznie wyższe od stwierdzanych we krwi obwodowej. Podobnie jak TNF, IL-6 zmniejsza insulinowrażliwość na poziomie molekularnym poprzez indukcję fosforylacji serynowej IRS-1. Hamuje też działanie insuliny nasilając glukoneogenezę. Endokrynnie działania IL-6 to termogeneza, stymulacja osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej i osi somatotropowej, supresja osi tarczycowej oraz indukowanie zespołu niskiej trijodotyroniny (*euthyroid sick*

syndrome) [80]. Produkcja IL-6 zmniejsza się pod wpływem glikokortykoidów, estrogenów i po utracie masy ciała, a zwiększa się znacznie (10-1000 razy) przy aktywacji współczulnej i stopniowo rośnie wraz z wiekiem [81]. Postulowano udział IL-6 w patofizjologii obturacyjnego bezdechu sennego [82]. Wysokie stężenia IL-6 stwierdzono w niestabilnej blaszce miażdżycowej [51]. Opisywano związek podwyższonych stężeń IL-6 ze śmiertelnością sercowo-naczyniową i całkowitą u osób starszych [83-85].

Interleukina 10 (IL-10)

Jest cytokiną przeciwzapalną produkowaną przez wiele komórek immunokompetentnych (limfocyty Th-2, limfocyty B, monocyty, makrofagi) i odgrywającą kluczową rolę w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej. Wpływa hamująco na produkcję innych cytokin, proces prezentacji antygenów i proliferacji limfocytów T, przeciwdziałając prozapalnym właściwościom TNF, IL-1, IL-6, IL-8. W tkance tłuszczowej IL-10 jest produkowana przede wszystkim przez monocyty, ale wydzielają ją także adipocyty [66, 86]. Skurk i wsp. [62] wykazali, że wraz ze wzrostem wielkości adipocytów w otyłości istnieje tendencja do spadku sekrecji IL-10. Niskie poziomy IL-10 zaobserwowano u pacjentów z MS i DM t. 2 [87, 88]. Istnieją sugestie, że IL-10 może hamować proces zapalny w ścianie naczynia. Stężenia IL-10 w surowicy są istotnym czynnikiem rokowniczym u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym [89]. Polscy autorzy donieśli, że poziom IL-10 w surowicy koreluje z insulinowrażliwością u młodych zdrowych mężczyzn i kobiet [90].

Interleukina 18 (IL-18)

Jest cytokiną prozapalną o szczególnych właściwościach aterogennych. Produkują ją nie tylko makrofagi i monocyty, ale także komórki śródbłonna, dendrytyczne i kardiomiocyty. Ekspresję IL-18 wykazano także w komórkach tkanki tłuszczowej [91]. U pacjentów z otyłością i DM t. 2 stwierdza się zwiększone stężenia IL-18 w surowicy. U chorych na cukrzycę z wysokimi poziomami IL-18 zauważono również zwiększenie grubości kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej (*intima-media thickness, IMT*) [92]. Podwyższone poziomy IL-18 zaobserwowano także u pacjentów z niestabilną dławicą piersiową – jak wiadomo cytokina ta odgrywa

istotną rolę w destabilizacji blaszki miażdżycowej [93]. Okazało się, że zwiększone stężenia IL-18 niezależnie wskazują na zwiększone ryzyko śmierci sercowo-naczyniowej u pacjentów z dławicą piersiową [94].

Adiponektyna

Głównym źródłem adiponektyny są adipocyty tkanki tłuszczowej trzewnej, a we krwi obwodowej wykrywa się znacznie wyższe stężenia tej cytokiny niż innych. Adiponektyna zwiększa produkcję substancji naczyniorozszerzających przez śródbłonek. Hamuje też indukowaną przez TNF adhezję monocytów do śródbłonka, która rozpoczyna rozwój blaszki miażdżycowej. Dokonuje się to głównie poprzez spadek ekspresji cząsteczek adhezyjnych VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) i E-selektyny. Adiponektyna hamuje też bezpośrednio produkcję TNF przez monocyty. Zmniejsza przekształcanie się monocytów w komórki piankowate i obniża ich zdolności do fagocytozy [95]. Dlatego adiponektynie przypisuje się właściwości przeciwmiażdżycowe [96]. Pomiedzy stężeniami adiponektyny, a ilością tkanki tłuszczowej trzewnej i BMI obserwuje się ujemną korelację [97] - inaczej niż w przypadku cytokin o właściwościach prozapalnych. Stężenie adiponektyny maleje w otyłości i DM t. 2 i jest szczególnie niskie, jeśli towarzyszą im jeszcze inne elementy MS [98, 99]. Wynika to prawdopodobnie ze zmienionej ekspresji cytokin, w tym nadekspresji TNF [76, 77]. Obniżone poziomy adiponektyny mogą świadczyć o rozwoju insulinooporności [100] i DM t. 2 [101-104] oraz wskazywać na zwiększone ryzyko ostrego zespołu wieńcowego [104-107]. Zmniejszone stężenia adiponektyny wykryto również u zdrowego szczupłego potomstwa chorych na DM t. 2 [108]. Ochronne właściwości adiponektyny potwierdza pięcioletnia obserwacja 745 mężczyzn z DM t. 2. U pacjentów z wysokimi stężeniami adiponektyny zaobserwowano mniej incydentów sercowo-naczyniowych [109]. Zależność tę potwierdziły wyniki 18-letniego badania retrospektywnego tysiąca mężczyzn [104]. Wiadomo, że redukcja masy ciała i wysiłek fizyczny zwiększają stężenia adiponektyny [110, 111]. Ligandy receptorów jądrowych PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptors*) – tiazolidynendiony – wykazujące szereg korzystnych efektów metabolicznych (poprawa wrażliwości na insulinę

i profilu lipidowego) działają między innymi poprzez wzrost ekspresji i sekrecji adiponektyny oraz znoszenie hamującego wpływu TNF [112-113].

Białko chemotaktyczne dla monocytów 1 (MCP-1)

Jest kluczowym regulatorem aktywności monocytów – komórek rozpoczynających proces tworzenia blaszki miażdżycowej. Przy zwiększonej ekspresji MCP-1 aktywowane monocyty naciekają ścianę naczynia, uwalniają działające prozapalnie cytokiny, a po sfagocytowaniu lipidów przechodzą w komórki piankowe [114]. Wzrost ekspresji MCP-1 i innych czynników chemotaktycznych pod wpływem dużych ilości TNF i IL-6 produkowanych przez przerośnięte adipocyty osób otyłych powoduje, że monocyty naciekają także tkankę tłuszczową [114]. Prowadzi to do przewlekłego stanu zapalnego i zmniejsza wrażliwość na insulinę. Podwyższenie stężenia MCP-1 zwiększa ryzyko zachorowania na DM t.2 [115]. Istotną rolę MCP-1 w patogenezie insulinooporności potwierdza obserwacja, że myszy pozbawione genu dla MCP-1 lub receptora niezbędnego do jego działania nie wykazują nacieku monocytów, aktywacji stanu zapalnego i pogorszenia wrażliwości na insulinę [116].

Cząsteczka adhezyjna komórek śródbłonna 1 (VCAM-1)

Cząsteczka adhezyjna komórek śródbłonna 1 (zwana też naczyniową cząsteczką adhezyjną lub CD 106) jest zakotwiczona w endotelium i pośredniczy w procesie przylegania do niego limfocytów i monocytów. Zewnętrzna część cząsteczki adhezyjnej może ulec enzymatycznemu oddzieleniu się od komórek śródbłonna i pozostawać we krwi jako forma rozpuszczalna (*soluble, sVCAM-1*). Prawidłowy śródbłonek ma właściwości antyadhezyjne i antyagregacyjne, ale jego uszkodzenie zwiększa wielokrotnie ekspresję cząsteczek adhezyjnych: naczyniowej, międzykomórkowej i E-selektyny w komórkach endotelialnych. Umożliwia to przenikanie do intymy komórek stanu zapalnego. Adhezja monocytów do ściany naczynia jest pierwszym etapem rozwoju miażdżycy. Wydaje się, że właśnie VCAM-1 jest najistotniejszą adhezyzną na wczesnym etapie tego procesu. Na modelu zwierzęcym wykazano, że zmniejszenie ekspresji VCAM-1 powoduje zahamowanie powstawania blaszek miażdżycowych [117]. Naczyniowa cząsteczka adhezyjna została więc uznana za możliwy punkt uchwytu terapii przeciwzapalnej

spowalniającej postęp miażdżycy. W fazie badań jest antyoksydant AGI-1067 (Succinobucol), którego działanie polega na zmniejszaniu ekspresji genu dla VCAM-1. Hamowanie ekspresji adhezyn wchodzi w zakres działania leków o ugruntowanej pozycji w terapii chorób serca i naczyń, takich jak kwas acetylosalicylowy, inhibitory reduktazy HMG-CoA, inhibitory enzymu konwertującego, antagoniści receptora angiotensynowego, ligandy PPAR γ , antagoniści kanału wapniowego i β -adrenolityki [118].

Białko wiążące retinol 4 (RBP-4)

Do niedawna było uważane wyłącznie za czynnik transportujący i chroniący retinol [119] – najważniejszy z retinoidów, grupy niezbędnych składników diety opisanych jako witamina A. Okazało się, że RBP-4 może być wydzielane również przez adipocyty [120]. Wydaje się, że sekrecja RBP-4 jest większa w tkance tłuszczowej trzewnej niż w podskórnej [121]. U myszy wzrost stężenia RBP-4 zmniejszał wrażliwość na insulinę w tkance mięśniowej i nasilał glukoneogenezę w wątrobie [122]. Opisano podwyższone poziomy RBP-4 w surowicy pacjentów z otyłością, nietolerancją glukozy i DM t. 2. Stężenia cytokiny odwrotnie korelowały z wrażliwością na insulinę [123]. Zwiększone poziomy RBP-4 w surowicy zaobserwowano także u zdrowych osób z wywiadem rodzinnym DM t. 2 [124]. Wyniki wpływu terapii lekami uwrażliwiającymi na insulinę na stężenie RBP-4 w surowicy są nieustalone [121].

Znaczenie stwierdzanych w surowicy stężeń adipokin i wskaźników procesu zapalnego nie jest jednoznacznie ustalone. Część autorów wskazuje, że są one nie tylko markerami podwyższonego ryzyka sercowo-naczyniowego, ale i czynnikami uszkodzającymi śródbłonek, a więc sprzyjającymi rozwojowi miażdżycy [125-126]. Z drugiej strony nie są one z całą pewnością jedynymi czynnikami odpowiedzialnymi za proces arteriosklerozy [127]. Istnieje jednak dużo dowodów, że przewlekły stan zapalny może być ważnym ogniwem łączącym otyłość i insulinooporność [57-59].

Cechy przewlekłego stanu zapalnego o niewielkim nasileniu zaobserwowano także u kobiet z PCOS [128, 129]. Nie wiemy, czy wynika on z tendencji do brzuszego

odkładania tkanki tłuszczowej, czy jest cechą samego zespołu [130]. Niewiele autorów oceniało, czy stężenia CRP i wybranych adipokin w surowicy wiążą się z obrazem klinicznym PCOS (rodzajem cech fenotypowych stwierdzanych u pacjentki) i nasileniem zaburzeń metabolicznych.

Niewiele wiadomo również jak stosowane w PCOS dwa podstawowe rodzaje terapii: klasyczna (doustny środek antykoncepcyjny o właściwościach antyandrogennych) i stosunkowo nowa (metformina) wpływają na stężenia adipokin i wskaźników procesu zapalnego w surowicy.

2. CELE PRACY

1. ocena zależności pomiędzy stężeniami adipokin i wskaźników procesu zapalnego, a zespołem cech fenotypowych i nasileniem zaburzeń metabolicznych u pacjentek z PCOS.
2. ocena wpływu czteromiesięcznej terapii metforminą lub doustnym środkiem antykoncepcyjnym zawierającym etynyloestradiol z octanem cyproteronu na klasyczne (BMI, obwód talii, ciśnienie tętnicze, lipidogram, glikemię, insulinemię) i potencjalne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego (stężenia adipokin oraz wskaźniki procesu zapalnego w surowicy)

3. MATERIAŁ I METODY BADAWCZE

3.1 Materiał badawczy

Po ogłoszeniach w gazecie i domach studenckich zgłosiły się 64 chętne do badania kobiety, u których stwierdzono zaburzenia miesiączkowania i/lub objawy nadmiaru androgenów. Do Poradni Endokrynologicznej Regionalnego Centrum Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii przy Katedrze i Klinice Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Akademii Medycznej w Gdańsku trafiło 51 z nich. Wyniki diagnostyki przeprowadzonej w poradni przedstawiono w Tabeli 2.

Tab. 2. Przyczyny hiperandrogenizmu i/lub zaburzeń miesiączkowania u 51 nowych pacjentek poradni

Rozpoznanie	n	%
<u>PCOS</u>	<u>40</u>	<u>78,4</u>
Hiperprolaktynemia	4	7,8
Hirsutyzm idiopatyczny	2	3,9
Otyłość prosta	2	3,9
Trądzik pospolity	1	2,0
Perimenopauza	1	2,0
Zaburzenia miesiączkowania pochodzenia podwzgórzowego	1	2,0
Razem zdiagnozowanych:	51	100

Trzydzieści dziewięć z czterdziestu pacjentek z PCOS zgodziło się uczestniczyć w niniejszym projekcie. Ponadto udział w badaniu zaproponowano 34 pacjentkom poradni z PCOS rozpoznany przed 2006 r.. Spośród nich, jedynie 7 wyraziło chęć udziału w badaniu (przyczyny odmowy pozostałych zawarto w Tabeli 3).

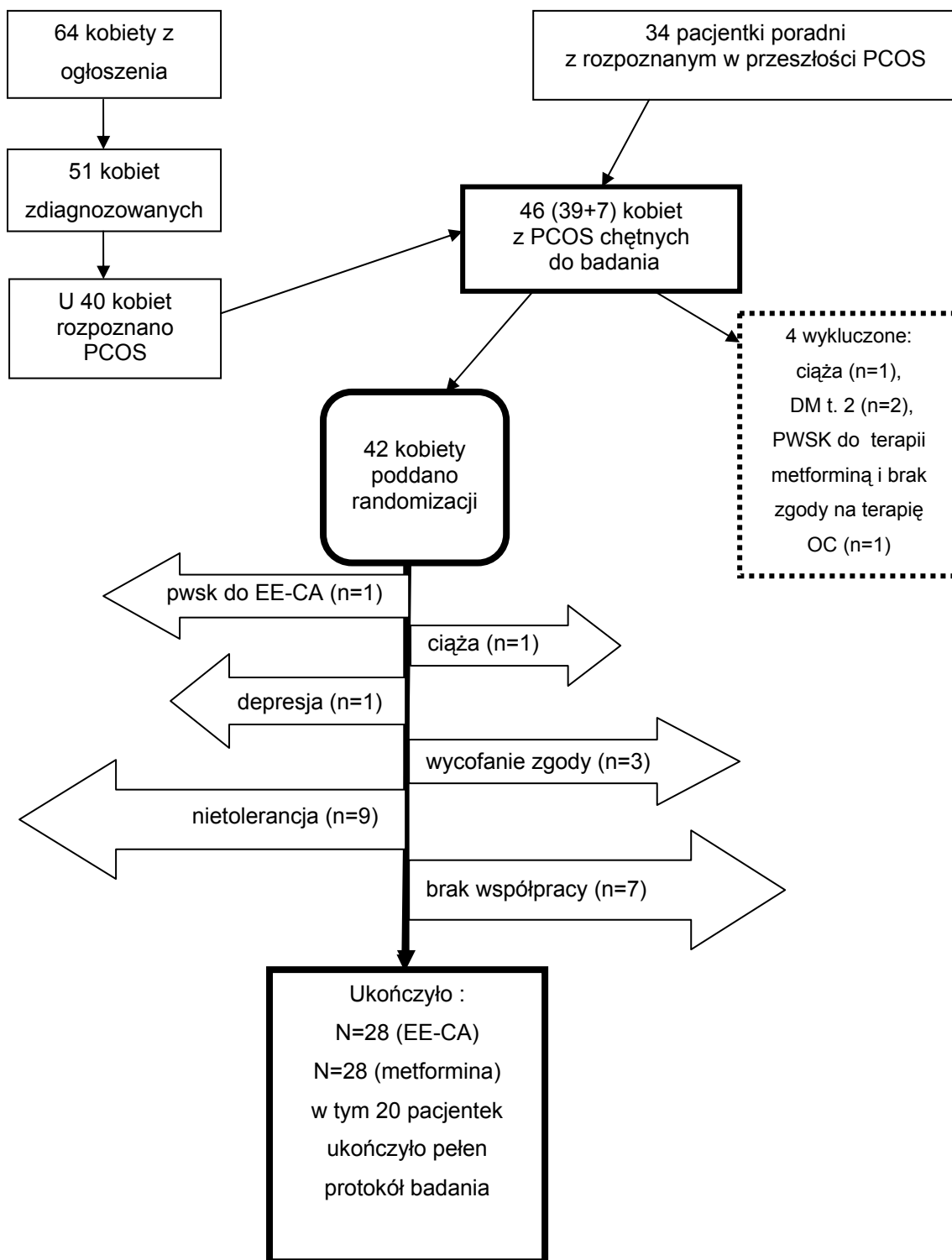
Tab. 3. Przyczyny braku zgody na udział w badaniu wśród pacjentek z PCOS rozpoznanych przed 2006 r.

	n
Brak czasu	7
Nietolerancja stosowanej w przeszłości terapii	5
Planowana ciąża	1
Urodzenie dziecka	2
Małe poczucie choroby	2
Wyjazd za granicę	1
Odmowa bez podania przyczyny	3
Brak kontaktu	6
RAZEM	27

Jako kryteria wykluczające udział w badaniu przyjęto:

- wiek powyżej 40 lat
- stosowanie OC w ciągu ostatnich trzech miesięcy
- przyjmowanie leków wpływających na ośrodkowy układ nerwowy (przeciwdepresyjne, uspokajające, psychotropowe), doustnych sterydów oraz innych leków w ciągu ostatniego miesiąca
- obecność niewyrównanej choroby tarczycy
- choroby psychiczne w wywiadzie
- przebyte infekcje w ciągu ostatniego miesiąca
- przewlekłe choroby zapalne w wywiadzie (astma, kolagenozy itd.)
- ciąża

U wszystkich 46 pacjentek z PCOS zebrano dane kliniczne, antropometryczne i laboratoryjne. Natomiast przed randomizacją do leczenia metforminą lub EE-CA (doustnym środkiem antykoncepcyjnym złożonym z etynyloestradiolu i octanu cyproteronu) wykluczono 4 pacjentki (przyczyny przedstawiono na Rycinie 1). Ostatecznie więc terapię rozpoczęły 42 pacjentki w wieku od 18 do 36 lat.



EE-CA, *ethinyl estradiol and cyproterone acetate* – połączenie etynyloestradiolu i octanu cyproteronu

Ryc. 1. Liczebność grupy kobiet z PCOS na poszczególnych etapach realizacji badania

3.2. Protokół badania

Rozpoznanie PCOS

Na wstępie przeprowadzono badanie przedmiotowe i podmiotowe uczestniczek. Następnie w Instytucie Położnictwa i Chorób Kobietych Akademii Medycznej w Gdańsku wykonano USG przezpochwowe lub przezbrzuszne. Obraz jajników policystycznych rozpoznawano zgodnie z przyjętymi w literaturze zaleceniami [9]. We wczesnej fazie folikularnej oznaczono w surowicy stężenie prolaktyny (PRL), TSH, 17 α -OH-progesteronu, testosteronu całkowitego (T. całk.), siarczanu dihydroepiandrosteronu (DHEA-S) oraz androstendionu (ANDROST). Na podstawie wykonanych badań wykluczono obecność hiperprolaktynemii, niedoczynności tarczycy, wrodzonego późno ujawniającego się przerostu kory nadnerczy, zespołu Cushinga i guza wirylizującego. Do rozpoznania PCOS przyjęto definicję zawartą w kryteriach rotterdamkich z 2003 r.. Wszystkie kobiety spełniały także kryteria PCOS opracowane przez Towarzystwo ds. Nadmiaru Androgenów (AES) w 2006 r..

Ocena cech klinicznych, antropometrycznych i laboratoryjnych kobiet z PCOS

Projekt badania uzyskał zgodę uczelnianej komisji etycznej.

Uczestniczki zostały poinformowane o istocie badania, a po potwierdzeniu w formie pisemnej zgody udzieliły odpowiedzi na zawarte w ankiecie pytania dotyczące stanu zdrowia i trybu życia (treść ankiety zawarto w Aneksie). W ten sposób uzyskano szczegółowe informacje o początku i dynamice zaburzeń miesiączkowania i objawów hiperandrogenizmu, o skuteczności zastosowanego dotychczas leczenia, a także związku tych problemów ze zmianami masy ciała i stosowaną dietą. Wykluczono także inne istotne dolegliwości, przewlekłe schorzenia i przyjmowane leki mogące wpływać na wynik badania. Ustalono również dokładny wywiad rodzinny w kierunku schorzeń układu sercowo-naczyniowego.

Następnie w fazie folikularnej cyklu miesiączkowego (między 3. a 6. dniem cyklu) między godziną 8.00 a 10.00 rano pobierano na czczo krew. Kobietom, u których z powodu zaburzeń miesiączkowania nie można było ustalić dnia cyklu, wykonano test ciążowy. Krew pobierano u nich pomiędzy 3 a 6 dniem po krwawieniu wywołanym podaniem leku o właściwościach gestagennych.

Podstawowe oznaczenia laboratoryjne obejmowały: morfologię krwi obwodowej, lipidogram, stężenie kreatyniny, transaminaz, glukozy. W przypadku stwierdzenia

nieprawidłowej glikemii na czczo (100-125 mg%) wykonywano doustny test obciążenia z 75 g glukozy (*oral glucose tolerance test*, OGTT). Badanie to wykonano także u wszystkich otyłych pacjentek. Uczestniczkom oznaczono stężenia: T. całkow., ANDROST, DHEA-S, FSH, LH, 17 β -estradiolu (E2), SHBG, insuliny i CRP. Ponadto zabezpieczono surowicę w celu oznaczenia wyjściowych poziomów cytokin: IL-6, IL-10, IL-18, adiponektyny, MCP-1, sVCAM-1, RBP-4.

Obserwacja w trakcie terapii

Następnie uczestniczki zostały losowo zakwalifikowane do leczenia metforminą w dawce 2 x 850 mg lub doustnym środkiem antykoncepcyjnym zawierającym 35 μ g EE i 2 mg CA (gestagenu o właściwościach antyandrogennych). Lek (metforminę lub EE-CA) uczestniczki otrzymywały przez 4 miesiące. Przez następne dwa miesiące pacjentki pozostawały bez terapii. Był to tzw. okres „wypłukania” (z ang. *wash-out period*). Po tym okresie, czyli po sześciu miesiącach od rozpoczęcia badania, następowała zamiana terapii. Pacjentki leczone już metforminą otrzymały jako drugi lek EE-CA i odwrotnie. Cały czas obserwacji trwał więc łącznie 10 miesięcy. Na kontrolnych wizytach po czterech, sześciu i po dziesięciu miesiącach odnotowywano tolerancję zastosowanego leczenia i daty miesiączek. Dokonywano także pomiarów masy ciała, obwodu talii, ciśnienia tętniczego i nasilenia hirsutyzmu według skali Ferrimana-Galwey’a. Ponadto pobierano krew w celu oznaczeń morfologii krwi obwodowej, lipidogramu, glukozy, insuliny, T. całkow., ANDROST, SHBG i CRP. Zabezpieczano również surowicę w celu oznaczenia poziomów cytokin: IL-6, IL-10, IL-18, adiponektyny, MCP-1, sVCAM-1, RBP-4. W Tabeli 4 przedstawiono schemat przebiegu badania.

RANDOMIZACJA	Wyjściowo I lek	Po 4 m-cach leczenia	„Wash- out period”	Wyjściowo II lek (6 m-cy)	Po 4 m-cach leczenia(10 m-cy)
	Metformina			EE-CA	
	EE-CA		Bez leku	Metformina	

Strzałkami zaznaczono wizyty u lekarza prowadzącego badanie: wyjściową, po 4, 6 i po 10 miesiącach.

Tab. 4. Schemat dziesięciomiesięcznego okresu obserwacji pacjentek z PCOS.

3.2 Metody

3.2.1 Pomiary antropometryczne

Zgodnie z rekomendacjami Światowej Organizacji Zdrowia (*WHO*) za obwód pasa przyjęto najmniejszy obwód tułowia pomiędzy talerzem kości biodrowej, a bocznym brzegiem żeber.

Pomiar ciśnienia był dokonywany w pozycji siedzącej po 5 minutach odpoczynku aparatem półautomatycznym firmy Omron.

3.2.2 Ocena nasilenia hirsutyzmu

Zastosowano skalę Ferrimana-Gallwey'a podsumowując wartości punktowe odpowiadające nasileniu owłosienia z 11 okolic ciała (Tabela 5).

Tab. 5. Ocena intensywności hirsutyzmu (według Ferrimana-Gallwey'a)

Lokalizacja	Stopień	Ocena kliniczna
Warga górna	1	Pojedyncze włoski w kącikach ust
	2	Małe wąsiki w kącikach ust
	3	Wąsiki w kącikach ust i obejmujące większą część wargi
	4	Wąsiki obejmujące całą wargę
Podbródek	1	Pojedyncze, rozsiane włoski
	2	Rozsiane włoski z małymi skupionymi kępkami
	3, 4	Włosy pokrywające cały podbródek
Klatka piersiowa	1	Włosy wokół brodawek sutkowych
	2	Włosy w linii środkowej i owłosienie wokół brodawek sutkowych
	3	Połączenie owłosienia z obu poprzednich lokalizacji, obejmujące $\frac{3}{4}$ powierzchni klatki piersiowej
	4	Włosy pokrywają całą klatkę piersiową
Kark	1	Pojedyncze, rzadko rozsiane włosy
	2	Włosy rzadkie, gęściej rozsiane
	3, 4	Cały kark pokryty cienkimi i grubymi włosami
Plecy	1	Kępka włosów w okolicy krzyżowej
	2	Włosy rozciągające się na boki okolicy krzyżowej
	3	Włosy obejmują $\frac{3}{4}$ pleców
	4	Włosy pokrywają całe plecy
Nadbrzusze	1	Pojedyncze włosy w linii środkowej
	2	Cienkie pasmo włosów w linii środkowej
	3,4	Szerokie pasmo włosów w linii środkowej
Podbrzusze	1	Pojedyncze włosy w linii środkowej
	2	Wąskie pasmo włosów w linii środkowej
	3	Szerokie pasmo włosów w linii środkowej
	4	Owłosienie w formie odwróconego trójkąta (męski typ owłosienia)

Ramiona	1 2 3, 4	Owłosienie nieprzekraczające ¼ powierzchni kończyny Owłosienie gęstsze, nieobejmujące całego ramienia Całkowite pokrycie ramienia cienkimi i gęstymi włosami
Przedramiona	1-2 3-4	Pokrycie całkowite powierzchni zewnętrznej: cienkie włosy Gęste włosy
Uda	1-4	Jak ramiona
Podudzia	1-4	Jak przedramiona

3.2.3 Podstawowe oznaczenia laboratoryjne

Krew z żyły łokciowej pobierano na czczo przy użyciu systemu próżniowego (15 ml do probówki bez antykoagulantu oraz 5 ml do probówki z EDTA). Wszystkie badania podstawowe (morfologia krwi obwodowej, lipidogram, poziom kreatyniny, transaminaz, glukozy), hormonalne (FSH, LH, E2, PRL, TSH, T całk., A, DHEA-S, insulina) oraz SHBG i CRP zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Klinicznym AM w Gdańsku przy użyciu komercyjnych zestawów. Stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL oraz triglicerydów oznaczano metodą oksydazową przy użyciu zestawów firmy Abbott Laboratories, USA, a poziom cholesterolu LDL wyliczano zgodnie z regułą Friedewalda. Poziom glukozy oznaczano metodą heksokinazową przy użyciu zestawów firmy Abbott Laboratories, USA. Metodą immunochemiluminescencji określano stężenia LH, FSH, E2, T, PRL, insuliny (zestawy firmy Abbott Laboratories, USA) oraz DHEA-S, A, SHBG (zestawy firmy DPC, USA). Poziomy 17 α -OH-progesteronu uzyskano metodą radioimmunologiczną przy użyciu zestawów firmy Biosource, Nivelles, Belgia. Do oznaczeń CRP wykorzystano metodę immunoturbidimetrii (zestawy firmy Abbott Laboratories, USA).

Używając wartości T całk. i SHBG wyliczono wskaźnik wolnych androgenów (FAI) jako $(T \text{ całk.}/SHBG) \times 100$.

3.2.4 Ocena insulinowrażliwości/insulinooporności

Użyto dwóch najczęściej używanych wskaźników insulinowrażliwości i insulinooporności opartych na stężeniach glukozy i insuliny na czczo:

- Homeostasis model assessment – HOMA-IR [131]:

$$[\text{insulina} \times \text{glukoza}] / 22.5$$
- Quantitative Insulin Sensitivity Check Index – QUICKI [132]:

$$1/[\log(\text{insulina}) + \log(\text{glukoza})]$$

Wydaje się, że właśnie one najlepiej korelują z wynikami uzyskiwanym w teście kłamry euglikemiczno-hiperinsulinowej [133]. Wyliczono także proponowany przez Dunaif i Legro wskaźnik glukozy na czczo podanej w mmol/l do insuliny na czczo w $\mu\text{U/ml}$ (FGIR), którego prostota jest niewątpliwą zaletą w praktyce klinicznej [134]. Ponadto wyliczono również stosunek stężeń triglicerydów do cholesterolu HDL (TAG/HDL) w surowicy. Jego wartość powyżej 3 może służyć za wskaźnik insulinooporności [135].

3.2.5 *Uzyskiwanie surowic do oznaczeń cytokin*

Krew pobraną na skrzep po odstaniu przez 60 min w temperaturze pokojowej odwirowywano przez 15 minut przy prędkości 3 000 obrotów/min, a następnie uzyskaną surowicę rozdzielało się po 1 ml do czterech plastikowych próbek o pojemności 1.5 ml. Uzyskane próbki zamrażano i przechowywano w temperaturze -80 stopni C.

3.2.6 *Oznaczanie poziomów cytokin*

Stężenia wszystkich badanych cytokin zostały oznaczone w Katedrze Żywienia Klinicznego AMG przy użyciu metody immunoenzymatycznej z zastosowaniem kitów firmy Biosource (Nivelles, Belgia) zgodnie z zaleceniami producenta. Każdy z zestawów zawierał płytkę z 96 dołkami opłaszczonymi przeciwciałami przeciwko badanej substancji. Przepłukiwanie dołków wykonywano automatycznie przy użyciu rozcieńzonego roztworu do płukania załączonego przez producenta (*Wash Buffer*).

IL-6

Przygotowany przez producenta preparat ludzkiej rekombinowanej IL-6 (*Hu IL-6 Standard*) rozpuszczono, a następnie rozcieńczono zgodnie z podanymi zasadami używając zawartego w zestawie roztworu (*Standard Diluent Buffer*). Uzyskano malejące standardowe stężenia IL-6. Do dołków nakładano po 100 μL standardów, surowic badanych i kontrolnych. Płytkę inkubowano na wytrząsarce przez 3 godziny w temperaturze 37 stopni C umożliwiając połączenie IL-6 z osadzonym w dołkach swoistym przeciwciałem, a następnie wszystkie dołki przepłukiwano 6 razy. Po dodaniu do każdego dołka po 100 μL przeciwciała anty-IL-6 skoniugowanego z biotyną (*Hu IL-6 Biotin Conjugate*) płytkę ponownie inkubowano przez 45 minut

w temperaturze pokojowej. Następnie po sześciokrotnym płukaniu usuwającym niezwiązane przeciwciała dodano do dołków po 100 μ L rozcieńczonego 100-krotnie enzymu (*Streptavidin-Peroxidase*) i płytkę inkubowano przez kolejne 45 minut w temperaturze pokojowej. Po sześciokrotnym płukaniu usuwającym nadmiar peroksydazy do dołków dodano po 100 μ L barwnego substratu (*Stabilized Chromogen*). Tak przygotowaną płytkę inkubowano w ciemni przez 30 minut, po czym reakcję przerywano przy użyciu roztworu kwasu (*Stop Solution*). Absorbancja produktu barwnego reakcji enzymatycznej odzwierciedlającą wprost proporcjonalnie stężenia IL-6 była oceniana natychmiast przy długości fali 450 nm. Na podstawie absorbancji w dołkach zawierających kolejne standardy obliczono stężenia IL-6 w próbkach badanych i kontrolnych.

IL-10

Preparat ludzkiej rekombinowanej IL-10 (*Hu IL-10 Standard*) rozpuszczono, a następnie rozcieńczono zgodnie z podanymi zasadami używając zawartego w zestawie roztworu (*Standard Diluent Buffer*), aby uzyskać malejące standardowe stężenia IL-10. Do dołków nałożono po 100 μ L przygotowanych standardów i surowic. Płytkę inkubowano na wytrząsarce przez 2 godziny w temperaturze 37 stopni C, a następnie wszystkie dołki przepłukiwano 4 razy. Po dodaniu do każdego dołka po 100 μ L przeciwciała anti-IL-10 z biotyną (*Hu IL-10 Biotin Conjugate*) płytkę ponownie inkubowano przez godzinę w temperaturze pokojowej. Następnie po czterokrotnym płukaniu dodano po 100 μ L rozcieńczonego 100-krotnie enzymu (*Streptavidin-Peroxidase*) i płytkę inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Dołki płukano czterokrotnie, a następnie dodano po 100 μ L barwnego substratu (*Stabilized Chromogen*). Tak przygotowaną płytkę inkubowano w ciemni przez 30 minut. Absorbancję produktu barwnego reakcji enzymatycznej po dodaniu roztworu kwasu (*Stop Solution*) oceniano natychmiast przy długości fali 450 nm. Na podstawie absorbancji w dołkach zawierających kolejne standardy obliczono stężenia IL-10 w próbkach badanych i kontrolnych z uwzględnieniem wyjściowego rozcieńczenia surowic.

IL-18

Zgodnie z podanymi przez producenta zasadami używając zawartych w zestawie liofilizatu IL-18 (*Hu IL-18 Calibrator*) i rozpuszczalnika (*Assay Diluent*)

przygotowano standardy. Rozcieńczono pięciokrotnie badane surowice. Do dołków nałożono po 100 μ L standardów i surowic. Płytkę inkubowano na wytrząsarce przez godzinę w temperaturze pokojowej, a następnie wszystkie dołki przepłukiwano 4 razy. Po dodaniu do każdego dołka po 100 μ L przeciwciała anty-IL-18 związanego z peroksydazą chrzanową (*Hu IL-18 Conjugate Reagent*) płytkę ponownie inkubowano przez godzinę w temperaturze pokojowej. Następnie po czterokrotnym płukaniu usuwającym nadmiar koniugatu dodano do dołków po 100 μ L substratu (TMB, tetrametylobenzodyna) w celu wykrycia aktywności peroksydazowej. Tak przygotowaną płytkę inkubowano w ciemni przez 30 minut, po czym reakcję przerywano przy użyciu roztworu kwasu siarkowego (*Stop Solution*). Absorbancję produktu barwnego reakcji enzymatycznej odzwierciedlającą wprost proporcjonalnie stężenia IL-18 oceniano natychmiast przy długości fali 450 nm. Na podstawie absorbancji w dołkach zawierających kolejne standardy obliczono stężenia IL-18 w próbkach badanych i kontrolnych z uwzględnieniem wyjściowego rozcieńczenia surowic.

Adiponektyna

Przy użyciu zawartych w zestawie liofilizatu rekombinowanej ludzkiej adiponektyny i rozpuszczalnika (*Diluent*) zgodnie z podanymi zasadami przygotowano standardy. Rozcieńczono badane surowice 1:2000. Do dołków nałożono po 100 μ L przygotowanych standardów i surowic. Płytkę inkubowano na wytrząsarce przez godzinę w temperaturze 37 stopni C, a następnie wszystkie dołki przepłukiwano 3 razy. Po dodaniu do każdego dołka po 100 μ L poliklonalnego przeciwciała przeciwko adiponektynie płytkę ponownie inkubowano przez godzinę w temperaturze 37 stopni C. Następnie po trzykrotnym płukaniu usuwającym dodano do dołków po 100 μ L peroksydazy chrzanowej koniugowanej z króliczą immunoglobuliną klasy G (*Detector*). Płytkę inkubowano przez kolejną godzinę w temperaturze 37 stopni C, a po pięciokrotnym płukaniu dodano po 100 μ L substratu dla reakcji barwnej. Po 20 minutach inkubacji bez dostępu światła reakcję przerywano przy użyciu roztworu kwasu (*Stop Solution*). Absorbancję produktu barwnego reakcji enzymatycznej odzwierciedlającą wprost proporcjonalnie stężenia adiponektyny oceniano natychmiast przy długości fali 450 nm. Na podstawie absorbancji w dołkach

zawierających kolejne standardy obliczono stężenia adiponektyny w próbkach badanych i kontrolnych z uwzględnieniem wyjściowego rozcieńczenia surowic.

MCP-1

Rozpuszczono przygotowany przez producenta preparat (*Hu MCP-1 Standard*) używając zawartego w zestawie roztworu (*Standard Diluent Buffer*), a następnie rozcieńczono zgodnie z podanymi zasadami uzyskując malejące standardowe stężenia MCP-1. Do wszystkich dołków dodano po 50 μ L buforu do inkubacji, a następnie nałożono po 50 μ L standardów oraz rozcieńczonych czterokrotnie buforem surowic badanych i kontrolnych. Przed pierwszą inkubacją dodano również do każdego dołka po 50 μ L przeciwciała anti-MCP-1 z biotyną (*Hu MCP-1 Biotin Conjugate*). Płytkę inkubowano na wytrząsarce przez 2 godziny w temperaturze pokojowej umożliwiając połączenie MCP-1 z obydwoma przeciwciałami, a następnie wszystkie dołki przepłukiwano 4 razy. W kolejnym etapie do dołków dodano po 100 μ L rozcieńzonego 100-krotnie enzymu (*Streptavidin-Peroxidase*) i płytkę inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Po czterokrotnym płukaniu usuwającym nadmiar peroksydazy do dołków dodano po 100 μ L barwnego substratu (*Stabilized Chromogen*). Tak przygotowaną płytkę inkubowano w ciemni przez 30 minut, po czym reakcję przerwano przy użyciu roztworu kwasu (*Stop Solution*). Przy użyciu fali o długości 450 nm oceniano absorbancję produktu barwnego reakcji enzymatycznej. Na podstawie absorbancji w dołkach zawierających kolejne standardy obliczono stężenia MCP-1 w próbkach badanych i kontrolnych uwzględniając czterokrotne rozcieńczenie badanych surowic.

sVCAM-1

Przygotowany przez producenta liofilizat sVCAM-1 rozpuszczono w wodzie destylowanej, a następnie rozcieńczono zgodnie z podanymi zasadami używając zawartego w zestawie roztworu (*Assay Buffer*). Uzyskano malejące standardowe stężenia sVCAM-1. Próbki surowic rozcieńczono buforem w stosunku 1:50. Do dołków nałożono po 50 μ L rozcieńzonego (1:100) roztworu zawierającego skoniugowane z biotyną przeciwciała anti-sVCAM-1 oraz peroksydazę chrzanową (*Streptavidin-HRP*), a następnie w odpowiednie dołki dodano po 100 μ L przygotowanych standardów, surowic badanych i kontrolnych. Płytkę inkubowano na wytrząsarce (100 rpm) przez 2 godziny w temperaturze pokojowej.

Po trzykrotnym płukaniu usuwającym nadmiar niezwiązanych substancji do dołków dodano po 100 μ L barwnego substratu (*TMB*, *tetrametylobenzydyna*). Tak przygotowaną płytkę inkubowano w temperaturze pokojowej bez dostępu światła przez 15 minut, po czym reakcję przerwano dodając roztworu kwasu (*Stop Solution*). Absorbancję produktu barwnego reakcji enzymatycznej oceniano natychmiast przy długości fali 450 nm. Na podstawie absorbancji w dołkach zawierających kolejne standardy obliczono stężenia sVCAM-1 w próbkach badanych i kontrolnych uwzględniając wyjściowe rozcieńczenie badanych surowic.

RBP-4

Przy użyciu zawartych w zestawie liofilizowanego rekombinowanego preparatu RBP-4 i rozpuszczalnika (*Diluent*) zgodnie z podanymi zasadami przygotowano standardy. Rozcieńczono badane surowice 1:100. Do dołków nałożono po 50 μ L przygotowanych standardów i surowic, a następnie taką samą ilość poliklonalnego przeciwciała przeciwko RBP-4. Płytkę inkubowano na wytrząsarce przez godzinę w temperaturze 37 stopni C, a następnie wszystkie dołki przepłukiwano 3 razy. Po dodaniu do każdego dołka po 100 μ L peroksydazy chrzanowej koniugowanej z króliczą immunoglobuliną klasy G (*Detector*) płytkę ponownie inkubowano przez godzinę w temperaturze 37 stopni C. Następnie po pięciokrotnym płukaniu dodano do dołków po 100 μ L substratu dla reakcji barwnej. Po 20 minutach inkubacji bez dostępu światła reakcję przerwano przy użyciu roztworu kwasu (*Stop Solution*). Absorbancję produktu barwnego reakcji enzymatycznej odzwierciedlającą wprost proporcjonalnie stężenia RBP-4 oceniano natychmiast przy długości fali 450 nm. Na podstawie absorbancji w dołkach zawierających kolejne standardy obliczono stężenia RBP-4 w próbkach badanych i kontrolnych z uwzględnieniem wyjściowego rozcieńczenia surowic.

3.2.7 Analiza statystyczna uzyskanych danych

Do analizy statystycznej uzyskanych wyników użyto programu STATISTICA wersja 8. Hipotezę o normalności rozkładu zmiennych weryfikowano testem W Shapiro i Wilka. W przypadku zmiennych spełniających założenie normalności rozkładu za miarę tendencji centralnej przyjęto średnią arytmetyczną, a za miarę rozproszenia błąd standardowy średniej (SEM). Dla zmiennych, które nie spełniały tego założenia za miarę tendencji centralnej przyjęto średnią geometryczną, a za miarę

rozproszenia 95% przedział ufności (*confidence interval*, 95% CI). Dla zmiennych wyrażonych w skali interwałowej (wskaźnik Ferrimana-Galwey'a) za miarę tendencji centralnej i rozproszenia przyjęto odpowiednio medianę oraz rozstęp międzykwartylowy (Q1-Q3).

Porównania grup przed rozpoczęciem terapii dokonano przy użyciu testu t-Studenta dla dwóch grup niezależnych. Zmienne niespełniające założenia normalności rozkładu poddano transformacji logarytmicznej.

W przypadku zmiennych niespełniających założenia normalności rozkładu mimo transformacji logarytmicznej używano testów nieparametrycznych. W celu porównania dwóch grup przed rozpoczęciem terapii zastosowano test U Manna-Whitney'a. Testem tym porównywano również wyjściowe wartości wskaźnika F-G.

Porównania przed rozpoczęciem terapii więcej niż dwóch grup wykonano przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA). Do analizy *post-hoc* zastosowano test Tukeya. Do analizy zmiennych niespełniających założenia normalności rozkładu mimo transformacji logarytmicznej posłużono się testem Kruskala-Wallisa, a do analizy *post-hoc* użyto testu U Manna-Whitney'a.

Analizy istotności różnic przed i po dwóch rodzajach terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych. Założenie o jednorodności wariancji sprawdzano testem Levene'a. Jako analizy *post-hoc* użyto testu Tukeya. W przypadku zmiennych niespełniających założenia normalności rozkładu mimo transformacji logarytmicznej zastosowano test kolejności par Wilcoxon. Testem tym porównywano również wartości wskaźnika F-G przed i po terapii.

Porównanie istotności różnic proporcji przed i po terapii wykonano przy użyciu testu Mc Nemary.

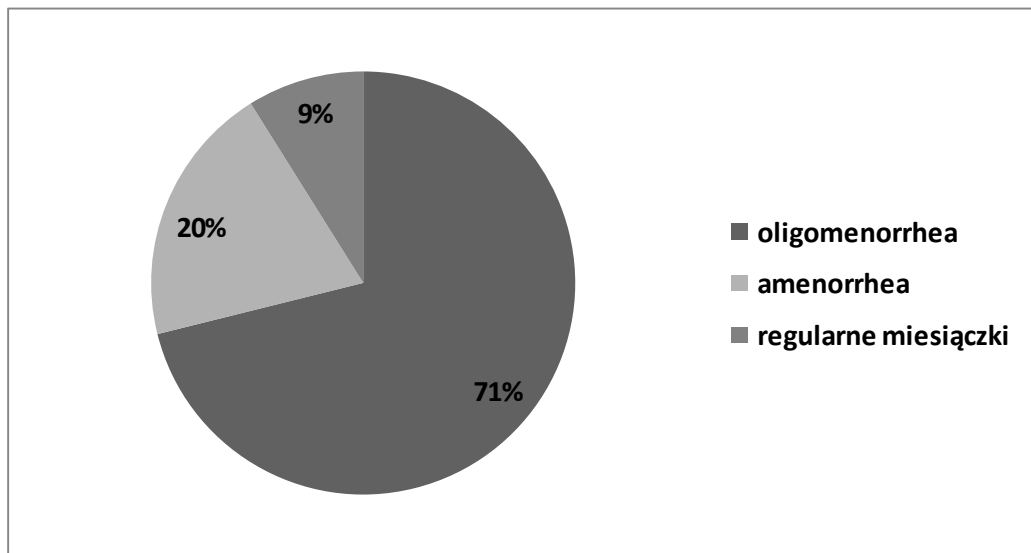
W celu oceny współzależności pomiędzy zmiennymi wyliczano wartość współczynnika korelacji linowej Pearsona lub nieliniowego współczynnika korelacji rang Spearmana. Zmienne, które nie spełniały założenia normalności rozkładu przed analizą korelacji liniowej poddano transformacji logarytmicznej. Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość $p < 0.05$.

4. WYNIKI

4.1 Charakterystyka badanych kobiet z rozpoznaniem PCOS

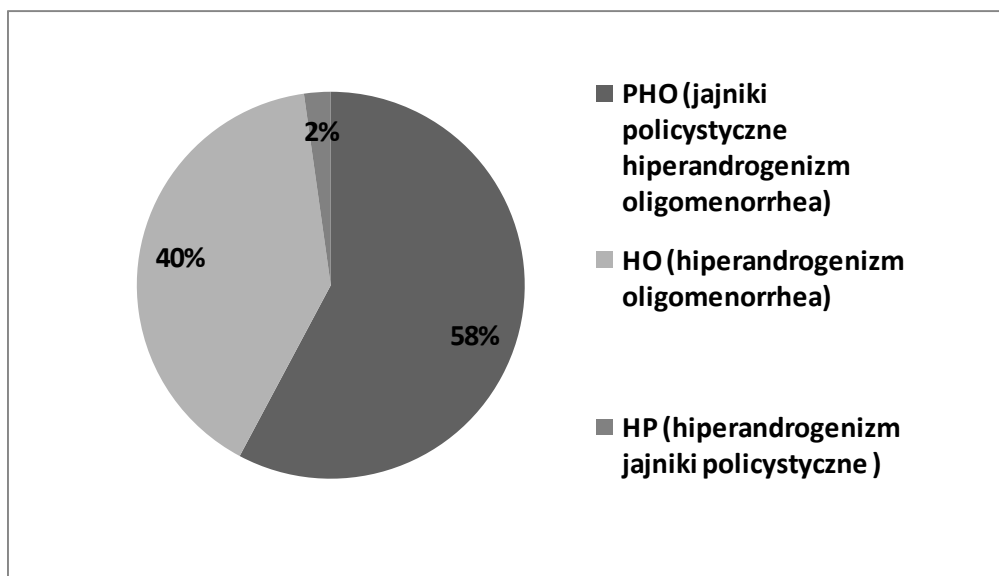
4.1.1 Charakterystyka kliniczna

Na podstawie wywiadu ustalono, że zaburzenia miesiączkowania o typie *oligomenorrhea* występowały u 71 % (n=32) kobiet. U 20 % (n=9) pacjentek stwierdzono *amenorrhea*. Jedynie 9% (n=4) pacjentek obserwowało regularne krwawienia miesięczne (Rycina 2), a połowa z nich (n=2) podawała w wywiadzie konieczność wykonania procedury indukcji owulacji celu uzyskania potomstwa. Aż 56% (n=25) pytanym pacjentek potwierdziło występowanie cech PCOS wśród swoich matek lub/i siostr.



Ryc. 2. Rodzaje zaburzeń miesiączkowania w badanej grupie (n=45)

Wszystkie badane pacjentki z PCOS prezentowały cechy kliniczne bądź laboratoryjne hiperandrogenizmu. Typowy obraz PCO w badaniu ultrasonograficznym stwierdzono wśród 58 % kobiet (n=26). Ustalono, że najczęstszym fenotypem wśród badanych był PHO (jajniki policystyczne, hiperandrogenizm, oligoanowulacja). Jego występowanie stwierdzono u 58% (n=26) pacjentek. Czterdzieści procent (n=18) kobiet prezentowało fenotyp HO (hiperandrogenizm, oligoanowulacja), a tylko jedna uczestniczka (2%) fenotyp HP (hiperandrogenizm, jajniki policystyczne).



Ryc.3. Fenotypy PCOS w badanej grupie.

Tab. 6. Występowanie czynników ryzyka chorób serca i naczyń w badanej grupie

Palenie papierosów	10/45	(22%)
Siedzący tryb życia	22/43	(51%)
Dieta „zachodnia”	30/44	(68%)
Dodatni wywiad rodzinny w kierunku:		
• Cukrzycy	23/45	(51%)
w tym u rodziców	10/45	(22%)
w tym u obojga rodziców	2/45	(4%)
• Nadciśnienia tętniczego	34/45	(76%)
w tym u rodziców	17/45	(38%)
w tym u obojga rodziców	2/45	(4%)
• Przedwczesnej choroby wieńcowej	12/45	(27%)
• Otyłości i nadwagi	36/45	(80%)
Zgon rodzica z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego	4/45	(9%)
Chrapanie	14/41	(34%)

Palenie papierosów stwierdzono wśród 22 % (n=10) pacjentek. Ponad 50 % pacjentek z PCOS nie podejmowało jakiegokolwiek aktywności fizycznej czy modyfikacji diety. Pozostałe, ustalone na podstawie wywiadu, czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego przedstawiono w Tabeli 6.

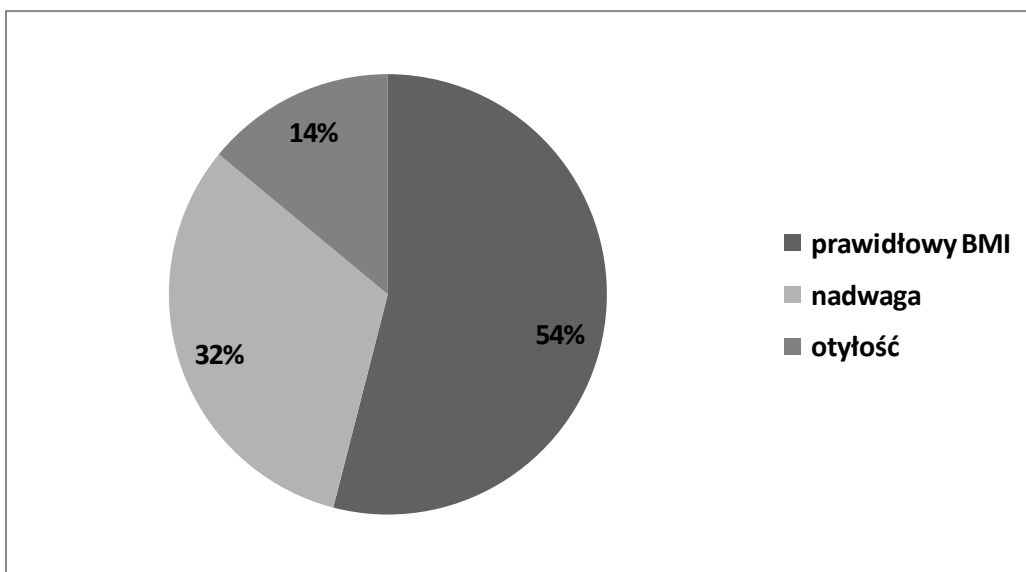
4.1.2 Dane antropometryczne

W Tabeli 7. przedstawiono dane antropometryczne badanych pacjentek. Do analizy tej nie zostały włączone dwie kobiety z PCOS i leczoną już DM t. 2, których wartości BMI wynosiły 49 i 39. Jak wynika z tabeli średni wiek badanych kobiet wynosił 24,9 lat, a ich średnia wartość BMI nie przekraczała górnego zakresu normy (24,9 kg/m²). Podwyższony BMI stwierdzono u 45,5 % pacjentek (n=20), przy czym 14 % (n=6) całej grupy było otyłe (ryc.4.1.2.2).

Tab. 7. Dane antropometryczne pacjentek z PCOS (wyłączono dwie pacjentki z leczoną DM t. 2)

n=44	Średnia arytmetyczna ± SEM lub średnia geometryczna (95% przedział ufności)*	Zakres
Wiek, lata *	24,9 (24,0 – 26,4)	18 – 36
BMI *	24,9 (23,9 – 26,5)	19,2 – 36,4
Obwód talii, cm *	77,6 (75,0 – 81,6)	64 – 113,5
Wskaźnik F-G (pkt) ^a	13 (8,0 – 17,5)	2 – 31
SBP (mm Hg)	117,2 ± 1,8	94 – 155
DBP (mm Hg)	70,5 ± 1,6	54 – 100
HR (1/min)	75 ± 1,6	50 – 100

^a mediana (Q1-Q3)



Ryc. 4. Rozpowszechnienie nadwagi i otyłości w badanej grupie

Obwód talii wynosił ponad 88 cm u 16 % (n=7) pacjentek, a u 39 % (n=17) był większy lub równy 80 cm. U ponad 10 % pacjentek (n=5) stwierdzono rozkurczowe ciśnienie tętnicze wyższe niż 85 mm Hg (w tym u dwóch wyższe niż 135 mm Hg ciśnienie skurczowe). Mediana wskaźnika Ferrimana-Galwey'a (F-G) oceniającego nasilenie hirsutyzmu wynosiła 13 pkt. Wartość wskaźnika F-G wyższą niż 8 pkt odnotowano u 80 % pacjentek. Obecność zmian trądzikowych stwierdzono u ponad 60 % badanych.

4.1.3 *Badania hormonalne*

Jak wspomniano wszystkie badane kobiety z PCOS prezentowały kliniczne lub laboratoryjne cechy hiperandrogenizmu. Pacjentki, u których nie stwierdzono hirsutyzmu, charakteryzowały się wysokim poziomem T. całk. w surowicy (powyżej 2,6 nmol/l).

Stężenia badanych hormonów w surowicy przedstawiono w Tabeli 8. Średnie poziomy androgenów wynosiły odpowiednio: T. całk. 4 nmol/l (przy wartościach referencyjnych zastosowanej metody od 0,45 do 3,75 nmol/l), androstendionu 3,1 ng/ml (wartości referencyjne: 0,3 - 3,5 ng/ml), a DHEA-S 221 µg/dl (wartości referencyjne: 35-430 µg/dl). Stężenia T całk., androstendionu i DHEA-S przekraczały górny zakres wartości referencyjnych u odpowiednio 55 %, 34 % i 4,5 % pacjentek.

Tab. 8. Badania hormonalne pacjentek z PCOS (wyłączono dwie pacjentki z rozpoznaną wcześniej i leczoną cukrzycą typu 2)

n=44	Średnia arytmetyczna ± SEM lub średnia geometryczna (95% przedział ufności)*	Zakres (min. – max.)
T całk. (nmol/l)	4,0 ± 0,2	2,0 – 6,5
ANDROST (ng/ml) *	3,1 (3,0 – 3,7)	1,3 – 6,3
DHEA-S (µg/dl) *	221 (209 – 273)	77 – 627
SHBG (nmol/l) * ^b	40,3 (38,7 – 53,6)	12,1 – 122
FAI * ^{b,c}	9,7 (9,4 – 15,2)	1,9 – 54
LH (U/l) *	4,5 (4,2 – 6,6)	1,2 – 23,5
FSH (mU/ml)	4,8 ± 0,2	2,5 – 6,9
LH/FSH *	1,0 (0,9 – 1,5)	0,2 – 6,0
E2 (pmol/l) * ^b	151 (127 - 232)	40 – 1215
17-OH-PROG (ng/ml) *	0,8 (0,8 – 1,1)	0,2 – 2,8
TSH (µU/ml) *	1,2 (1,1 – 1,5)	0,4 – 3,3
PRL (mU/l) *	330 (310 - 461)	56 – 1417 ^d
PRL po 1 h testu z metoklopramidem ^e	2761 ± 249	279 - 5210

^b n=43

^c FAI = (T całk. /SHBG) x 100

^d Trzem pacjentkom z podwyższonymi wartościami PRL wykonano badanie rezonansu magnetycznego przysadki i okolicy i nie stwierdzono obecności gruczolaka

^e n=28

Średnie stężenie SHBG w surowicy wynosiło 40,3 nmol/l. Ponad połowa wartości SHBG (n=22) mieściła się w pierwszym kwartylu wartości referencyjnych, a blisko trzy czwarte (n=32) w dolnej połowie ich zakresu. Średnia wartość wskaźnika wolnych androgenów (FAI) wyliczona na podstawie stężeń T. całk. i SHBG wynosiła 12,1. U ponad 60 % pacjentek (n=27) wartość FAI była podwyższona (powyżej 7). Jak wynika z tabeli stosunek stężeń LH do FSH w surowicy wynosił średnio 1,0. Tylko u 9 % pacjentek (n=4) stwierdzono (uznawany za charakterystyczny dla PCOS) większy niż 2:1 iloraz LH/FSH. Średni poziom E2 w surowicy wynosił 151 pmol/l

(wartości referencyjne dla kobiet w wieku rozrodczym w fazie folikularnej 128-620 pmol/l).

Stężenia TSH mieściły się w zakresie wartości referencyjnych u wszystkich kobiet, a średni poziom TSH wynosił 1,2 μ U/ml. Natomiast u trzech kobiet stwierdzono istotnie podwyższone stężenia PRL w surowicy. Wynosiły one 1417, 1031 i 993 mU/l (wartości referencyjne 25,2–628 mU/l). Pacjentkom tym wykonano badanie rezonansu magnetycznego. Nie stwierdzono w nim obecności gruczolaka przysadki.

U jednej pacjentki z poziomem 17-OH-PROG $>2,0$ ng/ml wykonano test z syntetyczną kortykotropiną (ACTH), który wykluczył obecność wrodzonego przerostu kory nadnerczy.

4.1.4 Gospodarka węglowodanowa

W Tabeli 9 przedstawiono wyniki badań gospodarki węglowodanowej. Nie zawiera ona danych dwóch kobiet z PCOS i leczoną już DM t. 2. Średnie wartości poziomów cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL i LDL oraz triglicerydów w surowicy nie przekraczały wartości pożądanych, ale u blisko 40 % pacjentek (n=17) poziom cholesterolu całkowitego był większy od 200 mg/dl. Ponad jedna czwarta pacjentek (n=12) miała obniżony poziom cholesterolu HDL. Średnia wartość poziomu triglicerydów wynosiła 71 mg/dl. U 11 % pacjentek (n=5) poziom triglicerydów przekroczył 150 mg/dl.

W grupie 44 pacjentek z PCOS bez rozpoznanych dotąd zaburzeń gospodarki węglowodanowej średni poziom glukozy na czczo wynosił 88 mg/dl i jedynie u dwóch pacjentek, które były otyłe nieznacznie przekraczał 100 mg/dl (101 mg/dl, 104 mg/dl). Po wykonaniu OGTT u jednej z nich rozpoznano upośledzoną tolerancję glukozy, u drugiej - nieprawidłową glikemię na czczo. Ostatecznie więc zaburzenia gospodarki węglowodanowej *de novo* rozpoznano u blisko 4,4 % uczestniczek badania.

Tab. 9. Gospodarka węglowodanowa pacjentek z PCOS (wyłączono dwie pacjentki z rozpozną wcześniej i leczoną DM t 2)

n=44	Średnia arytmetyczna ± SEM lub średnia geometryczna (95% przedział ufności)*	Zakres
Cholesterol całkow., (mg/dl)	194 ± 5,1	127 - 265
HDL-cholesterol (mg/dl)	58 ± 2,1	33 - 90
LDL- cholesterol (mg/dl)	120 ± 4,4	68 - 174
Triglicerydy (mg/dl) *	71,1 (67,4 – 98,1)	27 - 272
Cholesterol całkow./HDL	3,50 ± 0,96	2,04 – 6,22
Triglicerydy/HDL *	1,2 (1,2 – 2,1)	0,5 – 7,8
Insulina (μU/ml) *	6,1 (5,8 – 8,3)	1,4 – 21,3
Glukoza (mg/dl)	88 ± 1,1	74 - 104
Glukoza po 2 h (OGTT) ^{a f}	90,5 (83 – 103)	77 - 141
HOMA – IR *	1,3 (1,3 – 1,9)	0,3 – 5,3
QUICKI	0,370 ± 0,006	0,300 – 0,495
FIGR *	14,5 (13,7 – 19,7)	4,7 – 53,6

^a mediana (Q1-Q3)

^f n=9 (w tym wszystkie otyłe)

Średni poziom insuliny na czczo wynosił 6,1 μU/ml. U 18 % pacjentek (n=8) przekraczał on 10 μU/ml. Najwyższą insulinemię na czczo (21,3 μU/ml oraz 17,7 μU/ml) stwierdzono u pacjentek ze zdiagnozowanymi zaburzeniami gospodarki węglowodanowej.

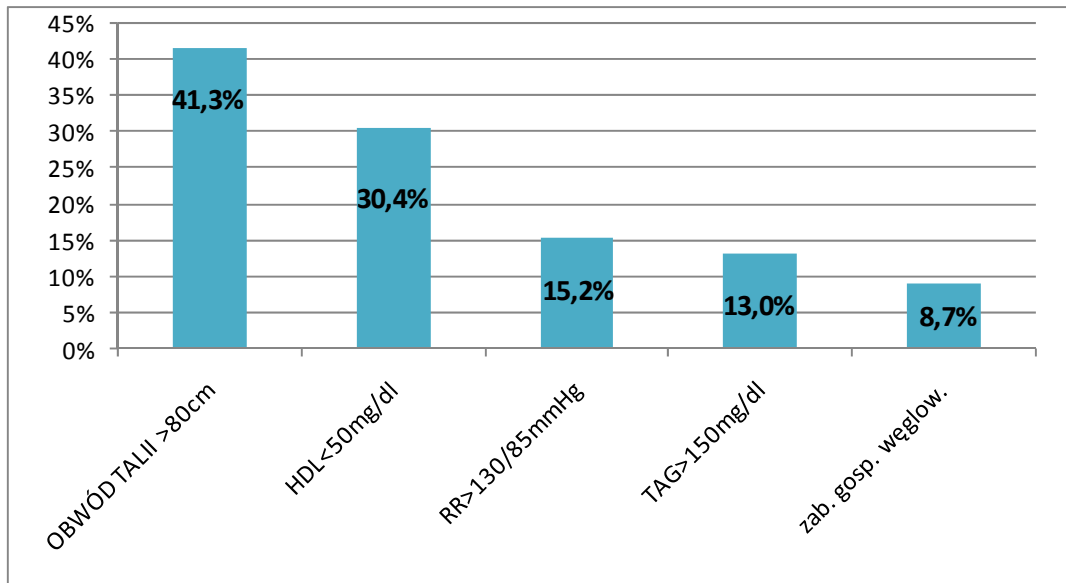
Średnie wartości wskaźników oceniających wrażliwość na insulinę wynosiły kolejno: HOMA-IR 1,3; QUICKI 0,370 i FIGR 14,5. Wartości uznawane za wskazujące na zmniejszenie wrażliwości na insulinę, czyli HOMA-IR większy niż 2,77 i QUICKI poniżej 0,357 stwierdzono odpowiednio u 9 % (n=4) i 39 % (n=17) kobiet. Wartość FIGR u wszystkich pacjentek mieściła się w normie (powyżej 4,5).

Zespół metaboliczny (MS) zgodnie z kryteriami III Raportu Zespołu Specjalistów Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej (*National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel, NCEP-ATP III*) rozpoznano u 6,8 % badanych (n=3). Zastosowanie kryteriów Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (*IDF*) pozwoliło rozpoznać MS u jeszcze dwóch pacjentek i zwiększyło odsetek rozpoznań do 11,4 % (n=5). Należy podkreślić, że obydwie pacjentki, których danych nie ujęto w analizie wyjściowej z uwagi na rozpoczęte już leczenie DM t. 2 i nadciśnienia tętniczego spełniały kryteria rozpoznania MS zarówno według *IDF*, jak i *NCEP-ATP III*. Tak więc w grupie 46 kobiet z PCOS zespół metaboliczny rozpoznany zgodnie z regułami *NCEP-ATP III* współistniał u 10,9 % pacjentek (n=5), a według *IDF* u 15,2 % badanych (n=7). Rozpowszechnienie cech będących składowymi zespołu metabolicznego zgodnie z definicją *IDF* w całej grupie kobiet z PCOS przedstawiono w Tabeli 10. i na Rycinie 5.

Tab. 10. Rozpowszechnienie cech składowych zespołu metabolicznego wśród kobiet z PCOS (uwzględniono dwie pacjentki z leczoną już DM t. 2)

N=46	n	%
Obwód talii >= 80 cm	19	41,3
HDL<50 mg/dl	14	30,4
SBP> 135 mm Hg		
lub/i DBP>85 mm Hg *	7	15,2
TAG >= 150 mg/dl	6	13,0
Zaburzenia gospodarki węglowodanowej:	4	8,7
w tym:		
IFG	1	2,2
IGT	1	2,2
DM t. 2	2	4,3

*lub terapia hipotensyjna



Ryc. 5. Rozpowszechnienie cech składowych zespołu metabolicznego wśród kobiet z PCOS (uwzględniono dwie pacjentki z leczoną już DM t. 2)

4.1.5 Porównanie podgrup pacjentek z PCOS z prawidłową masą ciała, nadwagą i otyłością

Wśród badanych kobiet z PCOS znajdowały się zarówno kobiety z podwyższonym jak i prawidłowym BMI. W Tabeli 11. przedstawiono dane pacjentek z PCOS i prawidłową masą ciała (n=24), nadwagą (n=14) i otyłością (n=6). Nie budzi wątpliwości związek zaburzeń metabolicznych z masą ciała. Istotne różnice stwierdzono już w grupie kobiet z nadwagą w porównaniu do szczupłych uczestniczek. Cechy hiperandrogenizmu były także bardziej nasilone u pacjentek z nadwagą i otyłych w porównaniu do kobiet szczupłych.

Tab. 11. Podział pacjentek z PCOS na podgrupy: z prawidłową masą ciała, nadwaga i otyłością

	BMI< 25 n=24	BMI (25-30) n=14	BMI>30 n=6
Obwód talii (cm)*	71 (69-73)	83 (80-87) ^a	96 (87-106) ^{b,c}
F-G (pkt)	10.5 (7-17)	14 (8-16)	19 (11-27)
SBP (mm Hg)	113 ± 2,3	119 ± 2,3	130 ± 5,7 ^c
DBP (mm Hg)	68 ± 2,2	72 ± 2,3	79 ± 5,2
DHEA-S (µg/dl)*	201 (176-271)	222 (187-281)	317 (232-421) ^{b,c}
T. całk. (nmol/l)	3.9 ± 0,2	3.7 ± 0,3	5.3 ± 0,4 ^{b,c}
Androstendion (ng/ml) *	2,9 (2,6-3,7)	3.2 (2,7-4,0)	4.2 (3,3-5,2)
SHBG (nmol/l)*	52 (47-67)	35 (27-48) ^a	20 (14-29) ^{b,c}
FAI*	7,2 (6,2-11)	10,7 (8,7-15,1) ^a	25,6 (13,4-42,4) ^{b,c}
HDL-chol. (mg/dl)	64 ± 2,5	54 ± 2,9 ^a	43 ± 3,5 ^{b,c}
Triglicerydy (mg/dl) *	54 (48-68)	86 (64-137) ^a	138 (105-177) ^{b,c}
Insulina (µU/ml)*	4.5 (4,1-5,6)	7.1 (6,1-9,6) ^a	13,6 (9,3-19,3) ^{b,c}
HOMA – IR *	1.0 (0,9-1,2)	1.5 (1,3-2,1) ^a	3.1 (1,9-4,8) ^{b,c}
CRP (mg/l) *	0.4 (0,4-0,8)	1,6 (1,1-3,5) ^a	5.2 (2,4-9,4) ^{b,c}
WBC (G/l) *	5.4 (4,9-6,3)	6.8 (6,1-7,7) ^a	7.4 (5,6-9,7) ^c

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)* z wyjątkiem wartości wskaźnika F-G przedstawionej jako mediana (Q1-Q3).

Analizy różnic dokonano przy pomocy ANOVA lub testów Kruskala-Wallisa. Do porównań post hoc posłużono się testem Tukeya lub U Manna-Whitney'a.

^a p<0.05 pomiędzy grupą I a II

^b p<0.05 pomiędzy grupą II a III

^c p<0.05 pomiędzy grupą I a III

4.1.6 *Ocena zależności wskaźników procesu zapalnego i stężenia adipokin od danych klinicznych, parametrów antropometrycznych oraz zmiennych hormonalnych i metabolicznych*

W surowicy pacjentek z PCOS oznaczono wskaźniki mogące świadczyć o istnieniu przewlekłego stanu zapalnego (WBC, CRP, sVCAM-1), IL-10 oraz wybrane adipokiny (IL-6, IL-10, IL-18, adiponektynę, MCP-1, RBP-4). Stężenia IL-6 i IL-10 były wykrywalne jedynie u kilku badanych.

Stężenia adipokin i wskaźników procesu zapalnego w surowicy nie zależały od stwierdzonego fenotypu PCOS. Nie zaobserwowano także różnic w podgrupach kobiet palących i niepalących oraz pomiędzy uczestniczkami z dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku DM t.2 i/lub nadciśnienia tętniczego, a pozostałymi pacjentkami.

Stężenia adipokin i wskaźników procesu zapalnego nie różniły się pomiędzy pacjentkami z i bez rozpoznanego zespołu metabolicznego.

W Tabelach 12 i 13 przedstawiono stwierdzone zależności pomiędzy stężeniami wskaźników procesu zapalnego i adipokin, a zmiennymi antropometrycznymi, hormonalnymi i metabolicznymi.

Poziom WBC w krwi obwodowej korelował z obwodem talii, BMI, wartościami ciśnienia tętniczego, profilu lipidowego, parametrami gospodarki węglowodanowej, a także poziomem DHEA-S ($r=0,331$, $p=0,042$; nie ujęto w tabeli). Wyjściowe poziomy CRP w surowicy w badanej grupie pacjentek nie korelowały ze stężeniami androgenów (T. całk., ANDROST, DHEA-S). Zaobserwowano natomiast silny związek CRP z BMI ($r=0,790$), obwodem talii ($r=0,757$), insulinemią na czczo ($r=0,524$) i wskaźnikiem HOMA ($r=0,513$). Poziomy CRP korelowały także z HDL, TAG i wartościami ciśnienia tętniczego. Zaobserwowano także związek pomiędzy stężeniami sVCAM-1, a wskaźnikami insulinooporności ($r=0,447$ dla korelacji z HOMA-IR i $r=0,437$ dla korelacji z insulinemią na czczo).

Wskaźniki stanu zapalnego (WBC, CRP i sVCAM-1) nie korelowały między sobą.

Tab. 12. Korelacje pomiędzy wskaźnikami stanu zapalnego, a zmiennymi antropometrycznymi, hormonalnymi i metabolicznymi u kobiet z PCOS

	WBC	CRP	sVCAM-1
Obwód talii (cm)	0,416 p=0,009	0,757 p<0,0001	0,266 p=0,107
BMI	0,453 p=0,004	0,790 p<0,0001	0,284 p=0,084
SBP (mmHg)	0,373 p=0,021	0,447 p=0,005	0,147 p=0,379
DBP (mmHg)	0,471 p=0,003	0,367 p=0,023	0,238 p=0,149
T. całk. (nmol/l)	0,287 p=0,080	0,141 p=0,399	0,095 p=0,569
FAI	0,419 p=0,009	0,447 p=0,005	0,133 p=0,427
HDL-chol. (mg/dl)	- 0,361 p=0,026	- 0,445 p=0,005	- 0,195 p=0,242
Triglicerydy (mg/dl)	0,612 p<0,0001	0,345 p=0,034	0,190 p=0,253
Insulina (μ U/ml)	0,340 p=0,037	0,524 p=0,001	0,437 p=0,006
HOMA – IR	0,330 p=0,043	0,513 p=0,001	0,447 p=0,005

W tabeli podano wartość współczynnika korelacji liniowej Pearsona.

Zmienne, które nie spełniały założenia normalności rozkładu przed analizą korelacji liniowej poddano transformacji logarytmicznej

Tab. 13. Korelacje wybranych adipokin ze zmiennymi antropometrycznymi, hormonalnymi i metabolicznymi u kobiet z PCOS

	adiponektyna	IL -18*
Obwód talii (cm)	- 0,318 p=0,052	0,241 p<0,05
BMI	- 0,338 p=0,038	0,273 p<0,05
SBP(mmHg)	- 0,228 p=0,169	0,138 p>0,05
DBP(mmHg)	- 0,327 p=0,045	0,113 p>0,05
T. całk. (nmol/l)	- 0,317 p=0,053	0,072 p>0,05
FAI	- 0,321 p=0,050	0,209 p>0,05
HDL-chol. (mg/dl)	0,441 p=0,006	- 0,124 p>0,05
Triglicerydy (mg/dl)	- 0,326 p=0,046	0,253 p>0,05
Insulina (μU/ml)	- 0,308 p=0,060	0,330 P<0,05
HOMA – IR	- 0,311 p=0,058	0,360 P<0,05
CRP (mg/l)	- 0,161 p=0,333	0,209 p>0,05
Adiponektyna (μg/ml)		-0,094 p>0,05
IL-18 (pg/ml)	-0,094 p>0,005	

W tabeli podano wartość współczynnika korelacji linowej Pearsona lub nieliniowego współczynnika korelacji rang Spearmana*. Zmienne, które nie spełniały założenia normalności rozkładu przed analizą korelacji liniowej poddano transformacji logarytmicznej.

Stężenie adiponektyny w surowicy korelowało istotnie z BMI, rozkurczowym ciśnieniem tętniczym, stężeniem cholesterolu HDL i triglicerydów w surowicy (Tabela 13) oraz stężeniem DHEA-S i wskaźnikiem wolnych androgenów (FAI). Bliski istotności statystycznej był związek adiponektyny z obwodem talii (p=0.052), insulinemią (p=0,060), HOMA-IR (p=0.058) oraz T. całk. (p=0,053) (Tabela 13.)

Stężenia IL-18 w surowicy korelowały nieliniowo z insulinemią i wskaźnikiem HOMA-IR, wykazywały także słaby, ale istotny statystycznie związek z BMI i obwodem talii (Tabela 13.). Nie stwierdzono istotnych powiązań między poziomami RBP4 i MCP-1 w surowicy, a innymi badanymi parametrami. Stężenia adipokin nie korelowały z poziomem CRP. Istotna statystycznie była odwrotna zależność liniowa pomiędzy adiponektyną, a sVCAM-1 ($r = - 0,325$, $p=0,044$; dane niezawarte w tabeli).

4.2 Ocena wpływu czteromiesięcznej terapii na zmienne antropometryczne, hormonalne i metaboliczne

Podgrupy pacjentek z PCOS przydzielone losowo do dwóch rodzajów terapii nie różniły się wyjściowo między sobą. Pomiędzy kobietami palącymi, a niepalącymi nie zaobserwowano wyjściowo istotnych różnic poza wyższą wartością triglicerydów w surowicy u kobiet palących (palące: 100,4 mg/dl; 95 %CI: 80,7-134,9 vs. niepalące: 62,9 mg/dl; 95% CI: 59,0-82,8; p=0,002). Palenie papierosów, kolejność zastosowanej terapii (pierwsza metformina czy EE-CA), dane z wywiadu rodzinnego zostały włączone do analizy wieloczynnikowej jako zmienne interferujące. Nie miały one istotnego wpływu na badane w pracy zmienne (cechy antropometryczne, badania hormonalne, gospodarkę węglowodanową, WBC, stężenia CRP, sVCAM-1 i wybranych adipokin w surowicy).

4.2.1 Tolerancja leczenia

Do leczenia metforminą lub EE-CA zakwalifikowano i zrandomizowano 42 pacjentki. Istotną przyczyną niedokończenia dziesięciomiesięcznego okresu obserwacji były objawy niepożądane zastosowanego leczenia. Zła tolerancja terapii mogła być także przyczyną braku współpracy u części uczestniczek. Z Tabeli 14. wynika, że blisko 45 % (n=15) pacjentek leczonych metforminą zgłaszało działania niepożądane. Najczęściej zgłaszano (według kolejności): nudności, dyskomfort w jamie brzusznej, wymioty i biegunkę. Z powodu objawów nietolerancji 15 % badanych (n=5) zaprzestało terapii metforminą. W czasie stosowania EE-CA działania niepożądane wystąpiły u 31 % pacjentek (n=10), a 12 % leczonych (n=4) zaprzestało z tego powodu udziału w badaniu. Kobiety otrzymujące EE-CA najczęściej zgłaszały nudności. Kolejnymi według częstości występowania objawami niepożądanymi towarzyszącymi terapii EE-CA były: mastodynia, zaburzenia nastroju, dyskomfort w jamie brzusznej i wymioty. Po zakończeniu okresu obserwacji na wizycie lekarskiej ustalano wspólnie obok zaleceń modyfikacji stylu życia dalsze postępowanie farmakologiczne u każdej pacjentki. Z 33 kobiet 27 % (n=9) zrezygnowało z farmakoterapii, 42 % (n=14) wybrało OC (w tym w połączeniu ze spironolaktonem), a 39 % (n=11) zdecydowało o kontynuacji terapii metforminą. W wybranych przypadkach zaproponowano połączenie metforminy z OC – na takie

postępowanie zgodziły się dwie kobiety. U jednej z pacjentek na ostatniej wizycie podjęto decyzję o terapii sibutraminą.

Tab. 14. Tolerancja obu rodzajów terapii

	EE-CA	Meformina
Objawy nietolerancji zmuszające do odstawienia leku	12 %	15%
Łagodne objawy nietolerancji	19%	29%
Chęć kontynuacji leczenia*	42%	33%

*w tym oba leki łącznie

4.2.2 Parametry antropometryczne przed i po terapii

Po czteromiesięcznej terapii zarówno EE-CA jak i metforminą nie zaobserwowano istotnej statystycznie zmiany masy ciała, ani obwodu talii. Należy zauważyć jednak, że w podgrupie pacjentek leczonych EE-CA odsetek kobiet, które zanotowały przyrost masy ciała był istotnie większy w porównaniu do grupy otrzymujących metforminę (71,4 % vs. 37,0 %, $p=0,04$). W wartościach bezwzględnych odpowiadało to średniemu przyrostowi masy ciała o 1,0 kg (95% CI: 0,2; 1,9) w grupie EE-CA i średniemu ubytkowi o 0,5 kg (95% CI 1,3; 0,2) w grupie otrzymującej metforminę. Po czteromiesięcznej terapii EE-CA odnotowano istotny statystycznie spadek punktacji wskaźnika F-G ($p<0.001$). Nie zauważono natomiast zmian w nasileniu hirsutyzmu ocenianym przy pomocy wskaźnika F-G po czteromiesięcznym leczeniu metforminą. W Tabeli 15. przedstawiono parametry antropometryczne przed i po terapii.

Tab. 15. Ocena wpływu terapii na parametry antropometryczne

Zmienna	EE-CA (n=28)		MET (n=28)	
	Przed	Po	Przed	Po
BMI (kg/m ²)*	24,2 (22,9-26,1)	24,4 (23,2-26,2)	25,4 (24,1-27,2)	25,1 (23,8-27,1)
Obwód talii (cm)*	75,8 (72,6-80,2)	77,0 (74,0-81,1)	78,5 (75,3-82,8)	78,5 (75,2-83,1)
F-G (pkt)	11,5 (7,5-17,5)	10 ^a (4,0-13,5) ^a	13 (8,5-16,0)	13,5 (8,5-18,0)
SBP (mm Hg)	117,3 ± 2,3	118,7 ± 2,3	114,8 ± 2,0	113,7 ± 2,0
DBP (mm Hg)	70,6 ± 2,2	72,5 ± 1,9	70,4 ± 1,9	68,5 ± 1,5

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)* z wyjątkiem wartości wskaźnika F-G przedstawionej jako mediana (Q1-Q3). Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych lub testu kolejności par Wilcoxon.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

Tab. 16. Ocena wpływu terapii na parametry hormonalne

Zmienna	EE-CA (n=28)		MET (n=28)	
	Przed	Po	Przed	Po
T. całk. (nmol/l)	4,0 ± 0,2	3,6 ± 0,2	3,9 ± 0,2	3,9 ± 0,3
ANDROST(ng/ml)*	3,4 (3,1-4,0)	2,9 (2,7-3,5)	3,5 (3,1-4,4)	3,5 (3,2-4,3)
SHBG (nmol/l)*	42,4 (38,8-55,8)	170,6 ^a (155,9-220,9)	43,7 (39,1-61,4)	43,8 (40,1-61,7)
FAI *	9,1 (8,4-13,4)	2,0 ^a (1,8-3,2)	8,5 (7,9-12,8)	8,6 (7,9-14,0)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)* Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych lub testu kolejności par Wilcoxon.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

4.2.3 Parametry hormonalne przed i po terapii

Poziomy T. całk. i ANDROST po czteromiesięcznej terapii EE-CA nie uległy zmianie. Zaobserwowano natomiast w tej grupie istotne obniżenie średniego poziomu SHBG ($p < 0.001$) i w konsekwencji również FAI ($p < 0.001$).

Po terapii metforminą stężenia T. całk., ANDROST, SHBG i FAI nie zmieniły się. Dane te podsumowano w Tabeli 16.

4.2.4 Gospodarka węglowodanowa przed i po terapii

Nie zaobserwowano istotnych zmian stężeń glukozy, insuliny oraz wskaźników FGIR, HOMA-IR i QUICKI zarówno po leczeniu metforminą jak i EE-CA. Zauważono natomiast istotny wzrost stężeń cholesterolu HDL ($p < 0.001$) i TAG ($p < 0.001$) w grupie EE-CA.

Po terapii metforminą nie zaobserwowano zmian w profilu lipidowym.

Tabela 17. przedstawia wyniki badań oceniających gospodarkę węglowodanową przed i po leczeniu.

Tab. 17. Ocena wpływu terapii na gospodarkę węglowodanową

Zmienna	EE-CA (n=28)		MET (n=28)	
	Przed	Po	Przed	Po
Ch. całk.(mg/dl)	190,4 ± 5,5	201,8 ± 5,1	187,7 ± 6,4	192,9 ± 6,6
HDL (mg/dl)	58,6 ± 2,5	66,8 ± 2,9 ^a	56,4 ± 2,5	55,5 ± 2,4
LDL (mg/dl)	116,1 ± 4,7	112,3 ± 5,1	116,5 ± 5,2	120,2 ± 5,9
TAG (mg/dl)*	70,5 (63,3-96,7)	100,7 ^a (90,9-136,1)	67,3 (60,1-92,6)	80,1 (72,9-101,7)
Insulina (μU/ml)*	6,0 (5,5-8,3)	6,4 (6,1-9,3)	6,4 (5,9-9,1)	6,4 (5,9-9,0)
Glukoza (mg/dl)	89,0 ± 1,2	87,0 ± 1,3	87,5 ± 1,4	84,9 ± 1,2
FGIR *	14,9 (13,5-20,7)	13,5 (10,9-23,3)	13,7 (12,1-20,8)	13,3 (11,7-19,6)
HOMA IR*	1,31 (1,20-1,86)	1,38 (1,30-2,03)	1,37 (1,27-2,03)	1,34 (1,24-1,94)
QUICKI	0,370±0,007	0,369 ± 0,008	0,369 ± 0,008	0,370 ± 0,008

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)* Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych lub testu kolejności par Wilcozona.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

4.2.5 Ocena wpływu terapii na leukocytozę, CRP i sVCAM-1

Tab.18. Zmiany leukocytozy oraz poziomów CRP i sVCAM-1 w surowicy przed i po terapii

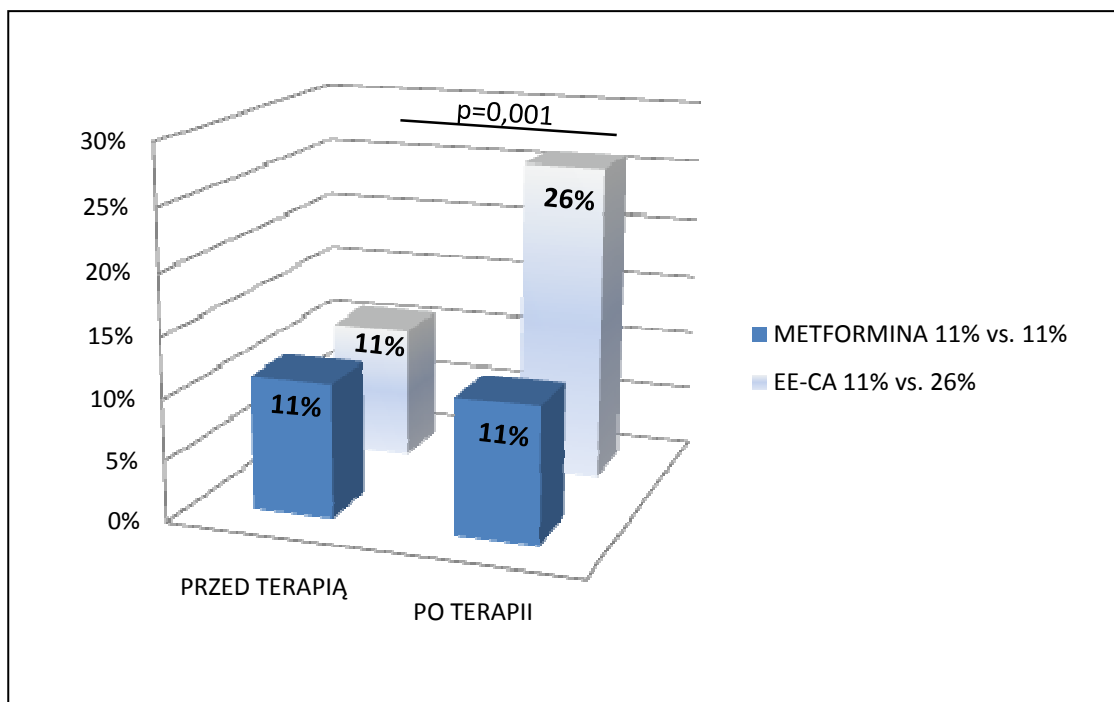
Zmienna	EE-CA (n=28)		MET (n=28)	
	Przed	Po	Przed	Po
WBC * (G/l)	5,9 (5,4-6,8)	5,9 (5,5-6,6)	6,36 (5,88-7,31)	6,7 (6,2-7,6)
CRP * (mg/l)	0,77 (0,70-2,18)	1,70 ^a (1,65-3,69)	0,84 (0,69-2,66)	0,76 (0,62-2,25)
sVCAM-1* (µg/ml)	0,566 (0,571-1,019)	0,689 (0,632-1,156)	0,390 (0,480-1,097)	0,579 (0,557-1,142)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności) * Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu testu ANOVA lub testu kolejności par Wilcoxona.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych ($p < 0.05$)

Zarówno czteromiesięczne leczenie EE-CA jak i metforminą nie wpłynęło istotnie na poziom WBC w krwi obwodowej i sVCAM-1 w surowicy. Po terapii EE-CA zaobserwowano natomiast wzrost stężenia CRP (przed terapią: 0,77 mg/l, 95 % CI: 0,70-2,18; po terapii: 1,70 mg/l, 95 % CI: 1,65-3,69; $p < 0.001$). Po czteromiesięcznym leczeniu metforminą stężenie CRP w surowicy nie zmieniło się (przed terapią: 0,84 mg/l, 95 % CI: 0,69-2,66; po terapii: 0,76 mg/l, 95 % CI: 0,62-2,25). Dane te podsumowano w Tabeli 18.

Przed rozpoczęciem terapii odsetek kobiet z poziomami CRP w surowicy większymi niż 3 mg/l nie różnił się w obu grupach (Rycina 5.). Po czterech miesiącach terapii EE-CA zanotowano wzrost liczby pacjentek ze stężeniami CRP większymi niż 3 mg/ml ($p = 0,001$). W grupie leczonej metforminą liczba kobiet z podwyższonym poziomem CRP nie zmieniła się.



Istotność różnic proporcji przed i po terapii oceniano przy użyciu testu Mc Nemary.

Ryc. 5. Wpływ czteromiesięcznej terapii na stężenie CRP w surowicy (przedstawiono odsetek pacjentek ze stężeniem CRP>3 mg/l) .

4.2.6 Ocena wpływu terapii na stężenia adipokin w surowicy

Tab. 19. Zmiany stężeń adipokin w surowicy przed i po terapii

Zmienna	EE-CA (n=28)		MET (n=28)	
	Przed	Po	Przed	Po
MCP-1* (pg/ml)	264 (241-376)	284 (253-414)	266 (241-343)	285 (258-363)
IL-18* (pg/ml)	179 (157-269)	190 (178-232)	157 (142-216)	163 (148-231)
Adiponektyna (µg/ml)	23,0 ± 0,979	25,2 ± 0,97	23,2 ± 0,969	24,1 ± 0,918
RBP 4 (µg/ml)	47,4 ± 4,51	60,7 ± 4,37	30,9 ± 4,94	51,3 ± 5,03

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności) * Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA lub testu kolejności par Wilcoxon.

Po czterech miesiącach obu rodzajów terapii nie stwierdzono istotnych zmian stężeń IL-18, adiponektyny, MCP-1 i RBP-4 w surowicy. Poziomy badanych adipokin przed i po terapii zawarto w Tabeli 19.

4.2.7 Ocena wpływu terapii na badane parametry w podgrupach kobiet z prawidłową masą ciała (BMI<25) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25)

Wpływ terapii badano również w podgrupach pacjentek z prawidłową masą ciała (BMI<25; n=17 w grupie EE-CA i n=15 w grupie metforminy) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25; n=11 w grupie EE-CA i n=13 w grupie metforminy). Zarówno u kobiet z prawidłową masą ciała jak i nadwagą lub otyłością po czteromiesięcznej terapii zarówno EE-CA jak i metforminą nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian masy ciała, obwodu talii i ciśnienia tętniczego.

Po terapii EE-CA odnotowano zmniejszenie nasilenia hirsutyzmu ocenianego przy pomocy wskaźnika F-G w obu podgrupach (p=0,003 w grupie BMI<25 i p=0,028 w grupie BMI>25). Po terapii metforminą nie stwierdzono zmian w punktacji wskaźnika F-G w żadnej z podgrup BMI. Dane te podsumowano w Tabeli 20.

Po terapii EE-CA jak i metforminą w obu podgrupach BMI poziomy T. całkowitej nie zmieniły się. W podgrupie kobiet z BMI>25 zaobserwowano natomiast obniżenie się poziomu ANDROST po terapii EE-CA. Poziomy ANDROST nie uległy zmianie w grupie kobiet szczupłych leczonych EE-CA. Po terapii metforminą w obu podgrupach BMI poziomy ANDROST, a także SHBG i FAI nie zmieniły się. Po terapii EE-CA zaobserwowano natomiast istotne obniżenie średniego poziomu SHBG w surowicy (p<0,001 w obu podgrupach BMI). Po terapii EE-CA obniżył się również FAI (p<0,001 w obu podgrupach). Zmiany te podsumowano w Tabeli 21.

Tab. 20. Ocena wpływu terapii na parametry antropometryczne w podgrupach kobiet z prawidłową masą ciała (BMI<25) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25)

Zmienna	EE-CA (n=28 [#])		MET (n=28 [#])	
	Przed	Po	Przed	Po
Masa ciała (kg)*				
BMI<25	62,3 (59,1-66,1)	63,4 (60,0-67,5)	64,9 (61,4-69,0)	63,5 (60,0-67,7)
BMI>25	78,0 (71,6-85,6)	77,7 (71,6-84,8)	80,4 (75,5-86,2)	80,8 (75,6-86,8)
Obwód talii (cm)*				
BMI<25	70,0 (67,5-72,8)	71,4 (69,3-73,8)	71,5 (69,5-73,7)	71,3 (69,2-73,6)
BMI>25	85,8 (81,4-91,6)	86,0 (81,1-90,6)	87,4 (83,5-91,8)	87,9 (83,9-92,3)
F-G (pkt.)				
BMI<25	10 (8-17)	9 (4-13) ^a	10 (5-13)	9 (5-15)
BMI>25	15 (7-18)	11 (4-14) ^a	16 (12-16)	17 (13-19)
SBP (mm Hg)				
BMI<25	112 ± 2,3	116 ± 2,3	112 ± 2,9	113 ± 2,9
BMI>25	126 ± 3,3	123 ± 4,2	118 ± 2,5	115 ± 2,7
DBP (mm Hg)				
BMI<25	67 ± 2,5	71 ± 2,3	70 ± 3,0	69 ± 1,8
BMI>25	77 ± 3,5	74 ± 3,1	71 ± 2,2	68 ± 2,7

[#] w grupie leczonej EE-CA 17 pacjentek z BMI<25 i 11 pacjentek z BMI>25 (w tym 2 otyłe) w grupie leczonej metforminą 15 pacjentek z BMI<25 i 13 pacjentek z BMI>25 (w tym 4 otyłe)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)* z wyjątkiem wartości wskaźnika F-G przedstawionej jako mediana (Q1-Q3).

Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych lub testu kolejności par Wilcoxon.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

Tab. 21. Ocena wpływu terapii na parametry hormonalne w podgrupach kobiet z prawidłową masą ciała (BMI<25) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25)

Zmienna	EE-CA (n=28) [#]		MET (n=28) [#]	
	Przed	Po	Przed	Po
T. całkow. (nmol/l)				
BMI<25	3,8 ± 0,2	3,3 ± 0,2	3,8 ± 0,3	3,8 ± 0,4
BMI>25	4,2 ± 0,3	3,9 ± 0,2	4,0 ± 0,3	3,9 ± 0,3
ANDROST(ng/ml)*				
BMI<25	3,2 (2,7-4,1)	3,0 (2,6-3,9)	3,7 (2,9-5,2)	3,7 (2,8-5,0)
BMI>25	3,6 (3,1-4,4)	2,7 (2,4-3,2) ^a	3,2 (2,8-3,9) _s	3,4 (2,9-4,2)
SHBG (nmol/l)*				
BMI<25	53,6 (46,8-67,4)	183 (156-255) ^a	55,2 (45,1-80,8)	59,9 (50,8-81,3)
BMI>25	29,5 (21,5-42,8)	153 (125-198) ^a	33,4 (26,8-44,5)	30,6 (24,1-42,8)
FAI *				
BMI<25	6,9 (5,6-10,0)	1,8 (1,3-3,4) ^a	6,6 (4,7-12,3)	6,2 (4,4-11,0)
BMI>25	14,0 (11,1-20,1)	2,5 (1,9-3,5) ^a	11,5 (9,5-15,4)	12,1 (9,4-19,5)

[#] w grupie leczonej EE-CA 17 pacjentek z BMI<25 i 11 pacjentek z BMI>25 (w tym 2 otyłe) w grupie leczonej metforminą 15 pacjentek z BMI<25 i 13 pacjentek z BMI>25 (w tym 4 otyłe)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)*

Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych lub testu kolejności par Wilcoxon.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

Zarówno w podgrupie kobiet z BMI<25 jak i u pacjentek z podwyższonym BMI nie zaobserwowano istotnych zmian w stężeniach glukozy, insuliny i wskaźników FGIR, HOMA-IR i QUICKI zarówno po leczeniu EE-CA jak i metforminą. W obu podgrupach BMI u pacjentek przyjmujących EE-CA zanotowano wzrost stężenia cholesterolu HDL w surowicy (p<0.001 w grupie BMI<25 i p=0,006 w grupie BMI>25). Po terapii EE-CA wzrost poziomu triglicerydów w surowicy odnotowano jedynie u pacjentek z BMI<25 (p<0.001). W Tabeli 22. podsumowano wymienione zmiany (nie podano w niej zmian wskaźników FGIR, HOMA-IR w czasie terapii).

Tab. 22. Ocena wpływu terapii na gospodarkę węglowodanową w podgrupach kobiet z prawidłową masą ciała (BMI<25) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25)

Zmienna	EE-CA (n=28) [#]		MET(n=28) [#]	
	Przed	Po	Przed	Po
Ch. całk.(mg/dl)				
BMI<25	191 ± 8,1	208 ± 6,2	187 ± 8,9	191 ± 9,9
BMI>25	190 ± 7,0	192 ± 8,3	189 ± 9,7	191 ± 9,2
HDL (mg/dl)				
BMI<25	63,8 ± 2,6	71,3 ± 3,0 ^a	61,3 ± 3,5	59,9 ± 3,3
BMI>25	50,7 ± 4,1	60,3 ± 5,1 ^a	50,7 ± 3,0	50,8 ± 3,1
LDL (mg/dl)				
BMI<25	115 ± 6,5	117 ± 6,7	114 ± 6,6	118 ± 7,9
BMI>25	118 ± 6,7	106 ± 8,0	119 ± 8,4	123 ± 9,0
TAG (mg/dl)*				
BMI<25	58,1 (49,0-76,6)	89,4 (74,1-126)	54,0 (42,0-76,3)	66,2 (55,2-86,1)
BMI>25	95,2 (72,7-141)	121 (90,2-178)	87,0 (68,8-124)	98,3 (82,3-128)
Insulina (μU/ml)*				
BMI<25	4,6 (4,0-5,8)	4,9 (4,0-8,1)	4,6 (3,7-6,8)	4,6 (3,7-6,7)
BMI>25	8,9 (7,3-12,6)	9,7 (8,0-12,2)	9,3 (7,7-12,5)	9,4 (7,9-12,3)
Glukoza (mg/dl)				
BMI<25	88,1 ± 1,7	85,3 ± 1,7	86,0 ± 1,7	83,6 ± 1,7
BMI>25	90,5 ± 1,5	89,5 ± 1,9	88,8 ± 2,3	86,6 ± 1,7
QUICKI				
BMI<25	0,385 ± 0,006	0,386 ± 0,012	0,390 ± 0,011	0,391 ± 0,01
BMI>25	0,347 ± 0,011	0,341 ± 0,005	0,345 ± 0,007	0,343 ± 0,006

[#] w grupie leczonej EE-CA 17 pacjentek z BMI<25 i 11 pacjentek z BMI>25 (w tym 2 otyłe) w grupie leczonej metforminą 15 pacjentek z BMI<25 i 13 pacjentek z BMI>25 (w tym 4 otyłe)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności)*

Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA dla pomiarów powtarzalnych lub testu kolejności par Wilcoxon.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

Tab. 23. Ocena wpływu terapii na leukocytozę, CRP i sVCAM-1 w podgrupach kobiet z prawidłową masą ciała (BMI<25) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25)

Zmienna	EE-CA (n=28) [#]		MET (n=28) [#]	
	Przed	Po	Przed	Po
WBC (G/l)*				
BMI<25	5,6 (4,8-6,8)	5,6 (5,1-6,4)	5,8 (5,1-6,9)	6,2 (5,6-7,2)
BMI>25	6,5 (5,5-7,7)	6,4 (5,6-7,5)	7,0 (6,1-8,4)	7,2 (6,3-8,8)
CRP (mg/l)*				
BMI<25	0,41 (0,33-0,67)	1,08 (0,93-2,05) ^a	0,42 (0,25-1,01)	0,38 (0,27-0,70)
BMI>25	1,96 (1,22-4,37)	3,71 (2,42-6,93) ^a	1,75 (0,87-4,75)	1,8 (0,9-4,3)
sVCAM1(μg/ml)*				
BMI<25	0,527 (0,456-1,0340)	0,654 (0,545-1,217)	0,366 (0,320-0,632)	0,569 (0,385-1,252)
BMI>25	0,640 (0,456-1,302)	0,753 (0,405-1,426)	0,420 (0,524-1,773)	0,590 (0,432-1,340)

[#] w grupie leczonej EE-CA 17 pacjentek z BMI<25 i 11 pacjentek z BMI>25 (w tym 2 otyłe) w grupie leczonej metforminą 15 pacjentek z BMI<25 i 13 pacjentek z BMI>25 (w tym 4 otyłe)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności) *

Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu testu ANOVA lub testu kolejności par Wilcoxon.

^a różnice istotne statystycznie w porównaniu do wartości wyjściowych (p<0.05)

W żadnej z podgrup BMI pacjentek leczonych EE-CA lub metforminą poziomy WBC w krwi obwodowej i sVCAM-1 w surowicy po terapii nie zmieniły się. Po terapii EE-CA w obu podgrupach zaobserwowano istotny wzrost poziomu CRP w surowicy. Wzrost ten był istotniejszy (średnio ponad 2,5-krotny) w podgrupie pacjentek z BMI<25 (p<0.001) w porównaniu do kobiet z BMI>25 (wzrost dwukrotny, p=0.022). Po terapii metforminą poziomy CRP w obu podgrupach nie zmieniły się. Dane przedstawiono w Tabeli 23.

Po czterech miesiącach obu rodzajów terapii nie stwierdzono zmian stężeń MCP-1, IL-18, adiponektyny i RBP-4 (Tabela 24.).

Tab. 24. Ocena wpływu terapii na stężenie adipokin w podgrupach kobiet z prawidłową masą ciała (BMI<25) oraz nadwagą lub otyłością (BMI>25)

Zmienna	EE-CA (n=28) [#]		MET (n=28) [#]	
	Przed	Po	Przed	Po
MCP-1 * (pg/ml)				
BMI<25	238 (200-330)	277 (234-386)	258 (215-346)	291 (237-396)
BMI>25	310 (228-522)	295 (182-560)	275 (216-396)	278 (225-383)
IL-18* (pg/ml)				
BMI<25	153 (122-242)	172 (150-231)	141 (113-207)	137 (114-201)
BMI>25	228 (145-378)	223 (194-262)	178 (137-264)	198 (149-301)
Adiponektyna (µg/ml)				
BMI<25	24,4 ± 1,48	26,9 ± 1,01	25,2 ± 1,13	25,7 ± 1,36
BMI>25	22,8 ± 1,02	23,9 ± 1,82	21,8 ± 1,55	23,2 ± 1,10
RBP 4 (µg/ml)				
BMI<25	54,2 ± 6,05	67,9 ± 6,08	59,1 ± 6,65	61,5 ± 6,77
BMI>25	51,9 ± 7,00	61,3 ± 6,11	50,4 ± 7,43	55,9 ± 7,70

[#] w grupie leczonej EE-CA 17 pacjentek z BMI<25 i 11 pacjentek z BMI>25 (w tym 2 otyłe)
w grupie leczonej metforminą 15 pacjentek z BMI<25 i 13 pacjentek z BMI>25 (w tym 4 otyłe)

Przedstawione wartości podano jako średnie arytmetyczne ± SEM lub średnie geometryczne (95% przedział ufności) *

Analizy istotności różnic przed i po terapii dokonano przy użyciu ANOVA lub testu kolejności par Wilcoxona.

W Tabeli 25 zestawiono odsetkowe zmiany wybranych parametrów po terapii EE-CA i meforminą w podgrupie kobiet z BMI<25. Zwraca uwagę odmienny wpływ terapii EE-CA na obwód talii i BMI w porównaniu do terapii metforminą – różnice te osiągnęły istotność statystyczną (wartości p podano w tabeli). W wartościach bezwzględnych (Tabela 20.) oznaczało to wzrost BMI, masy ciała i obwodu talii odpowiednio: o 0,4; o 1,1 kg i o 1,4 cm w grupie EE-CA. W grupie leczonej metforminą bezwzględny spadek BMI, masy ciała i obwodu talii wynosił odpowiednio: 0,5; 1,4 kg i 0,2 cm.

Tab. 25. Ocena wpływu terapii na wybrane parametry u kobiet z PCOS i prawidłową masą ciała

Δ Zmiana% ^a	EE-CA	Metformina	p
Δ Obwodu talii%	1.85 (n=16) [-0.11; 3.80]	-0.31 (n=15) [- 1.54 ;0.92]	0.034
Δ BMI%	1.78 (n=17) [0.29; 3.26]	-2.08 (n=15) [-3.21 ; -0.95]	<0.001
Δ T.całk.%	-5.16 (n=17) [-25.4; 15.1]	3.74 (n=14) [-10.2; 17.7]	0.475
Δ Androstendion%	7.25 (n=17) [- 20.1; 34.6]	10.28 (n=14) [-13.0; 33.6]	0.606
Δ FAI%	- 62.9 (n=17) [-82.0; -43.9]	3.0 (n=14) [-15.7; 21.7]	<0.001
Δ CRP%	305 (n=16) [92; 519]	-0.86 (n=14) [-28.9; 27.1]	<0.001
Δ Insulina%	20.6 (n=17) [-6.9; 48.2]	8.1 (n=15) [-14.4; 30.5]	0.521
Δ HOMA IR%	16.0 (n=17) [-10.2; 42.2]	6.1 (n=15) [- 17.4; 29.6]	0.558

^a Δ Zmiana% = (wartość zmiennej po terapii) – (wartość zmiennej przed terapią) / (wartość zmiennej przed terapią) x 100%.

Podane wartości przedstawiono jako średnie arytmetyczne [95% przedział ufności].
Analizę wykonano przy pomocy testu U Manna-Whitneya.

5. DYSKUSJA

Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnim dziesięcioleciu sugerują, że zespół policystycznych jajników zwiększa ryzyko wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych. U kobiet z PCOS stwierdzono cechy upośledzenia czynności śródbłonna: podwyższenie stężenia endoteliny 1 w surowicy [136-137] i zmniejszenie rozszerzalności naczyń (*flow-mediated dilation, FMD*) [137-139]. Zaobserwowano również wzrost IMT [140-142] - różnice pomiędzy kobietami bez i z PCOS ujawniły się dopiero po 45 roku życia [140]. U kobiet z PCOS wykazano również przyśpieszenie fali tętna (*pulse wave velocity, PWV*) [139] i zwapnienia w tętnicach wieńcowych [143-145].

Objawy choroby wieńcowej rzadko występują przed menopauzą. Utrudnia to określenie rzeczywistego udziału PCOS we wzroście ryzyka sercowo-naczyniowego w tym okresie [4]. Ze względów etycznych przeprowadzenie badań obserwacyjnych u wszystkich kobiet z PCOS jest wykluczone. Część z nich wymaga bowiem leczenia opóźniającego rozwój DM t. 2. Ostatnio opublikowano pracę oceniającą obecność zwężeń tętnic wieńcowych wśród 390 kobiet po menopauzie. Występowały one znacznie częściej u pacjentek z retrospektywnie stwierdzonymi cechami PCOS (n=104) niż u pozostałych kobiet [146]. Również w ocenie retrospektywnej wykazano częstsze występowanie incydentów mózgowo-naczyniowych u pacjentek z PCOS [147].

Zwiększenie ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych w PCOS nie jest zapewne zależne jedynie od otyłości, lecz od towarzyszących zaburzeń metabolicznych. Sugestię tę potwierdzają wyniki badań porównujących grupy kobiet: prawidłowo miesiączkujących i z PCOS. W drugiej z nich już na początku czwartej dekady życia stwierdzono wyższe ciśnienie tętnicze i stężenie cholesterolu LDL oraz obniżenie stężenia HDL – różnice te pozostały istotne także po uwzględnieniu wpływu masy ciała [148]. Częstsze występowanie subklinicznych zmian narządowych (IMT, PWV, zwapnień w tętnicach wieńcowych) było także niezależne od masy ciała [139, 140, 149]. Należy podkreślić, że u szczupłych kobiet z PCOS zaobserwowano obniżenie wrażliwości na insulinę [150, 151]. Prawdopodobnie PCOS wiąże się z unikalną

formą insulinooporności o słabo poznanym mechanizmie, a nadmiar tkanki tłuszczowej potęguje upośledzenie wrażliwości na insulinę.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono także problemowi przewlekłego stanu zapalnego towarzyszącego PCOS. Nie wiadomo czy jest on następstwem otyłości trzewnej, czy też cechą samego zespołu [130]. Interesujące jest zatem czy leki stosowane w terapii PCOS wpływają na wskaźniki procesu zapalnego i stężenia adipokin uznane za potencjalne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego [58-59]. Jednym z celów prezentowanej pracy była odpowiedź na to pytanie.

Kryteria rozpoznania PCOS

Zespół policystycznych jajników rozpoznawano przy użyciu przyjętych powszechnie kryteriów rotterdamskich. Są one krytykowane za poszerzenie i tak bogatego obrazu klinicznego zespołu. Należy jednak podkreślić, że w niniejszym badaniu wszystkie uczestniczki (z wyjątkiem jednej) prezentowały tzw. klasyczny (zgodny z ustaleniami *NIH*) zespół cech fenotypowych. U prawie 60 % badanych stwierdzono fenotyp PHO (*polycystic ovaries, hyperandrogenism, oligomenorrhea*), a u pozostałych (z wyjątkiem jednej) HO (*hyperandrogenism, oligomenorrhea*). Podobne rezultaty uzyskali autorzy greccy, odmienne - badacze z Korei. Aż u 30 % Koreanek z PCOS nie stwierdzono cech hiperandrogenizmu (klinicznych bądź laboratoryjnych) [152, 153].

Rozpoznanie PCOS w materiale własnym było zgodne z nowymi kryteriami opracowanymi przez AES [10].

Otyłość i nadwaga w PCOS

Badane kobiety pomimo klasycznego fenotypu nie miały dużych zaburzeń metabolicznych - zapewne z powodu młodego wieku (średnio 24,9 lat, 95 % CI: 24,0.–26,4) oraz prawidłowej masy ciała u ponad połowy badanych (średni BMI 24,9 kg/m², 95 % CI: 23,9 – 26,5). Otyłość stwierdzono u 14 % , a nadwagę u 32 % pacjentek.

W badaniu NATPOL PLUS – w grupie wiekowej kobiet od 18 do 36 lat rozpowszechnienie otyłości oceniono na 5,9 %, a nadwagi na 15,2 % [154]. U kobiet z PCOS otyłość i nadwaga występują zatem dwukrotnie częściej niż w populacji ogólnej.

Dotychczas opublikowano niewiele prac oceniających częstość nadwagi i otyłości u mieszkanki Europy z PCOS. Według danych włoskich otyłość dotyczyła 25,9 %, a nadwaga 36,9 % badanych [155]. Dla porównania w Stanach Zjednoczonych co najmniej 60 % kobiet z PCOS jest otyłe [151, 156].

Insulinooporność w PCOS

Ocenia się, że insulinooporność i hiperinsulinemia występuje u ponad 50 % kobiet z PCOS [151, 157]. W badaniu Carmina i wsp. podwyższoną insulinemię na czczo (powyżej 12,5 $\mu\text{U/ml}$) stwierdzono u 52,1 % badanych, a obniżoną wrażliwość na insulinę ocenianą przy pomocy QUICKI wykazano u 61 % [158]. W materiale własnym hiperinsulinemia (wartości powyżej 10 $\mu\text{U/ml}$) była obecna tylko u 18 % uczestniczek. Wartości HOMA-IR większe niż 2,77 i QUICKI poniżej 0,357 (wskazujące na zmniejszenie wrażliwości na insulinę) stwierdzono odpowiednio u 9 % (n=4) i 39 % (n=17) badanych. Wśród kobiet z obniżoną wartością wskaźnika QUICKI trzy pacjentki miały prawidłową masę ciała (BMI wynosiło: 24,3; 24,1 i 19,2 kg/m^2) i obwód talii (odpowiednio: 79 cm, 72,5 cm i 64 cm). Potwierdza to obserwację Dunaif i wsp., że również szczupłe kobiety z PCOS mogą mieć obniżoną wrażliwość na insulinę [41].

Stosunek stężeń w surowicy triglicerydów i cholesterolu HDL (TAG/HDL) przez część badaczy uznawany jest za praktyczny wskaźnik insulinooporności [135]. W niniejszym badaniu najslabiej korelował on z wartościami HOMA-IR i QUICKI. Ponadto u jednej pacjentki zaobserwowano jego fałszywy wzrost z powodu rodzinnej hiperlipidemii mieszanej.

Złotym standardem oceny insulinooporności jest technika kłamry metabolicznej. Ocena insulinooporności oparta na pomiarach stężeń glukozy i insuliny na czczo ma wiele ograniczeń. Przede wszystkim trudno je między sobą porównywać z powodu braku standaryzacji oznaczeń insulinemii. Dysfunkcja komórek β trzustki oczywiście wpływa na wynik [41]. Dlatego z oznaczeń w niniejszej pracy wyłączono kobiety

z rozpoznaną DM t. 2. Fulghesu i wsp. badając grupę szczupłych nastolatek z PCOS zaobserwowali, że zastosowanie wskaźnika HOMA-IR do oceny wrażliwości na insulinę może nie ujawnić ponad połowy przypadków hiperinsulinemii wykazanej w przedłużonym trzygodzinnym OGTT [159]. Wskaźniki matematyczne mogą być szczególnie mało czułe w wykrywaniu granicznych zaburzeń wrażliwości na insulinę [160]. Proponuje się, aby w praktyce klinicznej uznać, że wszystkie otyłe kobiety z PCOS są insulinooporne, a większość nieotyłych z dużym prawdopodobieństwem również.

Zespół metaboliczny w PCOS

Celowe wydaje się wyróżnienie kobiet z PCOS spełniających kryteria zespołu metabolicznego. Stwierdzenie obecności cech składowych MS może wyprzedzać pojawienie się cukrzycy nawet na 10 lat [161]. W ostatnim czasie ukazało się wiele prac szacujących rozpowszechnienie zespołu metabolicznego wśród kobiet z PCOS. Wyniki są rozbieżne. Zależą od wieku, pochodzenia etnicznego, kraju zamieszkania, a także różnych kryteriów rozpoznania PCOS i MS.

Glueck i wsp. używając zaleceń *NCEP-ATP III* i *NIH* rozpoznali zespół metaboliczny aż u 46 % badanych (średnia wieku wynosiła 31 ± 9 lat) [157]. Autorzy zauważyli, że częstość występowania MS w grupach wiekowych 20-29 lat i 30-39 lat badania *NHANES III* (*National Health And Nutritional Examination Survey III*) wynosiła odpowiednio 6 % i 15 %. Apridonidze i wsp. potwierdzili znacznie większe rozpowszechnienie MS wśród pacjentek z PCOS w porównaniu do kobiet z badania *NHANES III* [162].

Dane te trudno odnieść do innych populacji przede wszystkim z powodu dużego rozpowszechnienia otyłości w USA. W badaniu dużej grupy Chinek z PCOS częstość MS była istotnie większa niż u kobiet zdrowych [163]. Rozpowszechnienie MS u Czeszek i Włosek z PCOS rozpoznanym zgodnie z kryteriami rotterdamskimi oceniono na odpowiednio 1,6 % i 8,2 % (obecność MS ustalano według wcześniejszej wersji zaleceń *NCEP-ATP III* używając jako poziomu odcięcia dla glukozy 110 mg/dl) [155, 164]. Zwraca uwagę, że współistnienie obu zespołów w populacji Amerykanek jest około pięciokrotnie częstsze niż u Włosek.

Dane o częstości występowania zespołu metabolicznego u kobiet z PCOS w Polsce są skąpe. Według Kowalskiej i wsp. kryteria MS według *NCEP-ATP III* spełniło 21,6 % badanych [165]. W materiale własnym częstość ta wynosiła 10,9 % (kryteria *NCEP-ATP III*) oraz 15,2 % (kryteria *IDF*). Najczęściej (41,3 % badanych) stwierdzano zwiększenie obwodu talii powyżej 80 cm i obniżenie stężenia cholesterolu HDL poniżej 50 mg/dl (30,4 %). Rzadziej obserwowano podwyższenie ciśnienia tętniczego (15,2 %) i stężenia triglicerydów (13,0 %).

Otyłość centralna i obniżony poziom cholesterolu HDL były też najczęstszymi zaburzeniami metabolicznymi w dużych badaniach w USA [166, 167]. Zwraca jednak uwagę znacznie większe rozpowszechnienie składowych zespołu metabolicznego. Obwód talii powyżej 88 cm stwierdzono aż u 98 % uczestniczek, a zbyt niski poziom cholesterolu HDL dotyczył 95 % badanych. Podwyższone ciśnienie tętnicze, zwiększony poziom triglicerydów i glukozy wykryto odpowiednio u 70 %, 56 % i 11 % kobiet [157]. Według danych włoskich najczęstszymi cechami zespołu metabolicznego były kolejno: obniżony poziom cholesterolu HDL, zwiększony (>88 cm) obwód talii i zaburzenia gospodarki węglowodanowej – występowały one u odpowiednio 45,1 %, 39 % i 15,5 % badanych pod kątem częstości występowania zespołu metabolicznego kobiet z PCOS [158].

Należy podkreślić, że charakterystyczna dla PCOS [30] i kluczowa dla rozpoznania MS tendencja do wzmożonego odkładania tkanki tłuszczowej trzewnej dotyczy także pacjentek nieotyłych [31, 32]. W niniejszym badaniu u 70 % kobiet z nadwagą stwierdzono otyłość brzuszną według kryteriów IDF.

Wskaźniki procesu zapalnego i adipokiny w PCOS

Od lat wiadomo, że tkanka tłuszczowa jest istotnym narządem wydzielania wewnętrznego. Udowodniono również, że jej nadmiar jest przyczyną przewlekłego stanu zapalnego i insulinooporności – dwóch istotnych czynników ryzyka rozwoju miażdżycy i powikłań sercowo-naczyniowych. Podwyższone stężenia CRP zaobserwowano także u kobiet z PCOS [128, 129, 168]. Wykazano ich powiązanie z uszkodzeniem funkcji śródbłonna i insulinoopornością [169]. Opisywano również wyższą leukocytozę [170], zwiększone stężenia adhezyn [171] i cytokin prozapalnych w surowicy (TNF [172], IL-6 [173], IL-18 [174, 175]). Zaobserwowano także

obniżone stężenia adiponektyny [176, 177], która przeciwdziała nadmiernej odpowiedzi zapalnej. Ostatnio pojawiło się doniesienie o podwyższonych poziomach RBP-4 w surowicy kobiet z PCOS i ich związku z obniżeniem wrażliwości na insulinę [178]. Sugerowano, że także MCP-1 może brać udział w patogenezie insulinooporności w PCOS [179].

Nie jest jasne, czy dysregulacja produkcji cytokin jest cechą samego zespołu policystycznych jajników, czy też wynika z tendencji do otyłości trzewnej. W niniejszej pracy, podobnie jak w innych, nie wykazano korelacji stężeń CRP z poziomami androgenów [180-181]. Warto podkreślić, że wielu autorów nie zaobserwowało niezależnych od BMI różnic stężeń CRP u pacjentek z PCOS i w grupie kontrolnej [180, 182]. Podobne spostrzeżenia dotyczą IL-6 [180, 183], sVCAM-1 [171], RBP4 [184-185], adiponektyny [182, 184, 186]. Różnice w stężeniach IL-6 [173], IL-18 [174], RBP-4 [187] w surowicy zaobserwowane pomiędzy kobietami z PCOS i zdrowymi były proporcjonalne do stopnia otyłości i insulinooporności.

Być może z powodu niewielkich zaburzeń metabolicznych (średni BMI 24,9 kg/m²; 95 % CI: 23,9 – 26,5) u większości uczestniczek niniejszego badania nie wykryto IL-6 w surowicy. Stężenie IL-6 rośnie również wraz z wiekiem i u bardzo młodych zdrowych osób stężenia IL-6 w surowicy mogą być poniżej progu czułości metody [188].

Jak wspomniano, stężenia CRP w surowicy badanych kobiet nie korelowały poziomami całkowitego testosteronu, androstendionu i DHEA-S. Potwierdzono natomiast silny związek wartości CRP z obwodem talii, BMI, wartością skurczowego ciśnienia tętniczego, poziomem cholesterolu HDL, insulinemią na czczo oraz wskaźnikiem HOMA. Stężenia CRP w surowicy nie korelowały z poziomami badanych cytokin. Leukocytoza również, choć mniej silnie niż CRP, korelowała z cechami antropometrycznymi (obwodem talii, BMI, wartościami ciśnienia tętniczego) oraz parametrami gospodarki węglowodanowej. Zależności te opisali również inni autorzy [170, 183]. Podobnie jak w pracy Siemińskiej i wsp. [176], poziomy adiponektyny w materiale własnym korelowały ujemnie z wartościami BMI, rozkurczowego ciśnienia tętniczego, FAI, stężeniem TAG w surowicy, insulinemią i HOMA-IR, natomiast dodatnio ze stężeniami cholesterolu HDL. Ponadto, inaczej niż u wspomnianych badaczy, stężenia adiponektyny korelowały ujemnie z poziomem

DHEA-S w surowicy. Ujemna korelacja stężenia testosteronu całkowitego z poziomem adiponektyny w surowicy była bliska poziomu istotności statystycznej ($p=0,053$). O takiej korelacji donosili inni polscy autorzy [189].

Wyraźnej w niniejszym badaniu zależności między sVCAM-1 i wskaźnikami oceniającymi insulinowrażliwość nie zaobserwowali Diamanti-Kandarakis i wsp. [171]. Natomiast o stwierdzonym w materiale własnym związku IL-18 z masą ciała, insulinemią na czczo i wskaźnikami insulinooporności kobiet z PCOS donosili już Escobar-Morreale i wsp. [174]. Ostatnio Zhang i wsp. potwierdzili korelację stężeń IL-18 z wrażliwością na insulinę ocenianą w teście kłamry metabolicznej, ale nie wykazali związku poziomów IL-18 z BMI, obwodem talii i profilem lipidowym. [175].

W materiale własnym, tak jak u innych autorów [185, 187], nie zaobserwowano korelacji RBP 4 ze wskaźnikami insulinooporności. Istnieją jednak doniesienia o takim związku [123]. Stężenia RBP 4 nie wykazywały też w niniejszym badaniu powiązania z masą ciała i poziomami androgenów. Takie wyniki uzyskali też Hutchison i wsp. [185]. Spośród wzajemnych korelacji pomiędzy adipokinami istotna statystycznie była odwrotna liniowa zależność pomiędzy adiponektyną, a sVCAM-1. Może ona wynikać ze znanego ochronnego działania adiponektyny na naczynia. Polega ono między innymi na hamowaniu adhezji monocytów do śródbłonna głównie przez spadek ekspresji cząsteczek adhezyjnych, w tym sVCAM-1 [190].

Wpływ metforminy

Niewiele wiadomo o wpływie metforminy na proces zapalny. Przypuszcza się, że hamuje ona w tkance tłuszczowej niekorzystny proces lipolizy i uwalniania FFA [191]. W prezentowanej pracy nie wykazano wpływu czteromiesięcznej terapii metforminą na stężenia CRP, sVCAM-1 oraz wybranych adipokin (MCP-1, IL-18, adiponektyny, RBP-4) w surowicy młodych kobiet z PCOS bez istotnych zaburzeń metabolicznych. Być może wyniki te byłyby inne w większej grupie pacjentek i dłuższej obserwacji. Jest jednak bardzo prawdopodobne, że brak wpływu terapii na poziomy badanych parametrów wynikał z niewielkich zaburzeń metabolicznych badanych.

Istnieją doniesienia o redukcji stężeń CRP w PCOS po terapii metforminą [171, 192]. Średnie BMI pacjentek w pierwszym z badań wynosiło ponad 30 kg/m². U Morin-Papunen i wsp. obniżenie CRP było wyraźniejsze u kobiet otyłych niż u nieotyłych (spadek o 56 % vs. 31 % w stosunku do wartości przed leczeniem) [192]. Orio i wsp. stwierdzili jednak redukcję CRP także u kobiet bez zaburzeń metabolicznych po sześciu miesiącach terapii metforminą. Jednocześnie wykazali spadek liczby limfocytów i monocytów [193]. Po leczeniu metforminą otyłych kobiet z PCOS zaobserwowano również redukcję poziomów sVCAM-1, ale nie sICAM-1 i E-selektyny [171] oraz zwiększenie stężenia adiponektyny w surowicy [194]. Mimo podobnej do badania fińskiego grupy otyłych kobiet, Möhlig i wsp. nie stwierdzili zmian stężeń CRP i IL-6 po terapii metforminą [180]. Redukcji poziomów CRP przez metforminę nie potwierdzili także inni autorzy [194-195]. W pracy Jakubowskiej i wsp. sześciomiesięczne stosowanie metforminy w dawce 2 x 500 mg w grupie 29 kobiet z PCOS i BMI>25 nie zmieniło stężeń IL-6 i TNF. Zwiększyło natomiast poziom adiponektyny [194]. Niektórzy autorzy nie zaobserwowali jednak, aby leczenie metforminą zmieniało poziomy adiponektyny [186, 196], czy RBP 4 [185] – tak jak w niniejszej pracy. Ustalenie wpływu terapii metforminą na zmiany stężeń adipokin i ewentualne znaczenie tej modulacji w redukcji ryzyka-sercowo naczyniowego kobiet z PCOS wymaga dalszych badań.

Bezpieczeństwo terapii OC

Nie znamy efektów długotrwałego stosowania OC u kobiet z PCOS. Zaobserwowany w badaniu wyraźny wzrost stężenia CRP w surowicy wyłącznie w grupie przyjmującej EE-CA nie był połączony z istotnymi zmianami masy ciała, ani obwodu talii. Nie towarzyszyło mu też zwiększenie stężenia badanych cytokin prozapalnych. Nie miał więc najpewniej związku ze zmianami aktywności sekrecyjnej tkanki tłuszczowej trzewnej. Wynikał zapewne z indukcji wątrobowej syntezy białek. Zjawisko to zaobserwowano w czasie doustnej podaży estrogenów [197]. Według danych z badania ASCLEPIOS w czasie stosowania hormonalnej terapii zastępczej poziom CRP wzrasta o 20 %. Przyjmowanie OC może go podnieść nawet trzykrotnie [198]. Podobny wzrost zaobserwowano w niniejszym badaniu. Nie wiadomo, jak obserwowane zmiany CRP wpływają na rokowanie populacji ogólnej kobiet stosujących OC [199]. Nie stwierdzono równoczesnego wzrostu cytokin prozapalnych

[198]. U kobiet z PCOS zaobserwowano redukcję stężeń adiponektyny w czasie terapii EE i drospirenonem [200]. Inni autorzy donieśli jednak o zwiększeniu poziomu adiponektyny po półrocznym stosowaniu EE-CA u otyłych pacjentek z PCOS [196]. Istnieją też dane o tendencji do równoczesnego wzrostu CRP i obniżania się poziomu sVCAM-1 w czasie terapii EE-CA u kobiet z PCOS [201]. Może to sugerować izolowany i niegroźny charakter zjawiska nadmiernej produkcji CRP w wątrobie w czasie stosowania OC.

Niektórzy autorzy postulują jednak, że CRP jest nie tylko wskaźnikiem stanu zapalnego, ale odgrywa też aktywną rolę w procesie miażdżycowym [125-126]. Niepokoić może więc znaczny odsetek kobiet z poziomami CRP powyżej 3 mg/l w czasie stosowania OC. Wynosił on 27,3 % vs. 8,5 % u niestosujących OC w badaniu Cauci i wsp. [199]. W materiale własnym podwyższone stężenie CRP po terapii stwierdzono u 26 % leczonych EE-CA w porównaniu do 11 % u otrzymujących metforminę. Bezpieczeństwo długoterminowego stosowania OC jest szczególnie ważne w PCOS z powodu wyjściowo upośledzonej insulinowrażliwości, aterogennej dyslipidemii i gotowości prozakrzepowej [202-203]. Nieliczne wyniki badań nad skutkami metabolicznymi obecnie stosowanych w PCOS doustnych środków antykoncepcyjnych są bardzo rozbieżne.

Ocenę wpływu OC na tolerancję węglowodanów przeprowadzono w grupach różniących się masą ciała, pochodzeniem etnicznym i wywiadem rodzinnego występowania cukrzycy. Używano wielu preparatów (różne dawki etynyloestradiolu i rodzaj użytego gestagenu). Uzyskanie wiarygodnych wniosków utrudnia dodatkowo mała liczebność badanych grup (zwykle nieprzekraczająca 20 osób) i krótki okres obserwacji (od trzech do dwunastu miesięcy, najczęściej półroczny) [204]. W większości z tych badań z wyjątkiem dwóch [205-206] nie zaobserwowano, aby terapia OC wiązała się z pogorszeniem tolerancji węglowodanów. Ocena wpływu OC na insulinowrażliwość (również przy użyciu kłamy metabolicznej) dała rozbieżne wyniki. Obserwowano nasilanie insulinooporności [207-210], brak zmian [211-214], a nawet zwiększenie insulinowrażliwości [215-217]. W cytowanych badaniach stosowano różne gestageny, ale sprzeczne wyniki odnoszą się także do stosowania EE-CA. W niniejszym badaniu czteromiesięczna terapia EE-CA u 28 kobiet o średnim BMI 24,9 kg/m² (95 % CI: 23,9 – 26,5) nie powodowała zmian wrażliwości na insulinę ocenianej wskaźnikami QUICKI i HOMA-IR. Są to jednak

mało czułe metody do wykrywania niewielkich zmian insulinowrażliwości. Świadczą o tym wyniki Meyer i wsp.. Nie stwierdzili oni zmian QUICKI i HOMA-IR w czasie sześciomiesięcznej terapii EE-CA. Zaobserwowali natomiast przyrost pola pod krzywą insulinową (*area under curve, AUC*) w czasie doustnego testu tolerancji glukozy. Badanie to przeprowadzono jednak u kobiet z średnim BMI 36,5 kg/m² [210]. Brak zmian insulinowrażliwości w niniejszym badaniu nie musi więc być wynikiem fałszywie ujemnym.

Wydaje się, że OC mogą obniżać insulinowrażliwość i pogarszać tolerancję glukozy, ale nie musi to dotyczyć jednakowo wszystkich kobiet. Zespół policystycznych jajników cechuje duża różnorodność fenotypów, na które nakłada się wpływ otyłości i czynników genetycznych. Możliwe jest, że terapia OC jest obojętna metabolicznie u kobiet z prawidłowym BMI lub nawet poprawia wrażliwość na insulinę obniżając poziom wolnych androgenów. Natomiast u kobiet otyłych lub/i z rodzinnym wywiadem cukrzycy ryzyko ujawnienia się zaburzeń gospodarki węglowodanowej może przewyższać korzyści z leczenia hiperandrogenizmu [218]. Hipotezę tę mogą potwierdzać wyniki badań Morin-Papunen przeprowadzone w grupie kobiet otyłych i nieotyłych [206, 212].

Istotną kwestią, nie tylko w PCOS, jest wpływ OC na masę ciała. W dużym przeglądzie randomizowanych badań klinicznych wykazano, że jest on nieistotny [219]. Z drugiej strony istnieją doniesienia o zwiększaniu przez OC ilości brzusznej tkanki tłuszczowej w PCOS [220]. W niniejszym badaniu nie zaobserwowano istotnych zmian masy ciała i obwodu talii w czasie czteromiesięcznej terapii EE-CA - także u kobiet z BMI > 25 kg/m². Trudno natomiast ocenić znaczenie nieistotnej statystycznie tendencji do przyrostu masy ciała zaobserwowanej w podgrupie z prawidłowym BMI. Być może wynikała ona ze zwiększonego zatrzymywania płynów. Warto jednak wziąć pod uwagę, że wszystkie cztery pacjentki, których masa ciała po badaniu wzrosła o ponad 5 %, otrzymywały EE-CA. Konieczne są dalsze badania dotyczące zagadnienia wpływu OC na masę ciała i dystrybucję tkanki tłuszczowej kobiet z PCOS.

Powszechnie znany jest efekt podnoszenia stężenia triglicerydów szczególnie przy stosowaniu OC zawierających gestagen o słabej lub nieobecnej składowej androgennej. Po badaniu stężenie TAG powyżej 150 mg/dl stwierdzono u 32,1 % pacjentek (n=9) leczonych EE-CA i tylko 3,5 % kobiet (n=1) otrzymujących

metforminę. Wyjściowa liczba badanych z hipertriglicydemią była jednakowa w obu grupach (n=2; 7,1 %). Być może izolowany wzrost poziomu TAG w surowicy nie zwiększa istotnie ryzyka sercowo-naczyniowego. Nie wiadomo, czy obserwowane w czasie stosowania OC zwiększenie stężenia cholesterolu HDL wpływa na rokowanie. Zasugerowano, że preparaty antykoncepcyjne trzeciej generacji mogą chronić przed zawałem mięśnia sercowego korzystnie modulując poziom HDL, ale nie wszyscy się zgadzają z tą koncepcją [221].

Dane o subklinicznych zmianach narządowych w czasie stosowania OC są bardzo skąpe. W populacji kobiet badania ASKLEPIOS zaobserwowano zależność między czasem stosowania OC, a wzrostem PWV [222]. Ten sam zespół badaczy doniósł o częstszym występowaniu miażdżycy tętnicy udowej i szyjnej – ilorazy szans po 10 latach OC wynosiły odpowiednio 1.28 (1.10–1.47) i 1.17 (1.00–1.33) u kobiet niestosujących OC [223]. W sześciomiesięcznym badaniu prospektywnym stosowanie EE-CA powodowało zwiększenie PWV w porównaniu do grupy kobiet z PCOS leczonych metforminą. Nie stwierdzono jednak w tym samym czasie zmian FMD [210].

Zaprezentowane wyniki oraz rezultaty cytowanych badań potwierdzają trudności w terapii PCOS. Stosowanie OC zapewnia regularne złuszczenie endometrium, zmniejsza nasilenie objawów hiperandrogenemii. Istnieją jednak kontrowersje dotyczące bezpieczeństwa długoterminowej terapii. Nie podlega także dyskusji, że działania poprawiające insulinowrażliwość, w tym leki uwrażliwiające na insulinę, są skuteczne w populacji ogólnej w profilaktyce DM t. 2 [224]. Metformina wywiera szereg korzystnych działań metabolicznych, potwierdzonych również w PCOS [225]. Pojawia się jednak pytanie o celowość jej stosowania u pacjentek bez istotnych zaburzeń metabolizmu. W niniejszym badaniu terapia metforminą przez cztery miesiące nie wpłynęła na gospodarkę węglowodanową oraz stężenia CRP, sVCAM-1 i adipokin, które mogą wiązać się z ryzykiem sercowo-naczyniowym. Stosowanie metforminy nie poprawiło też objawów hiperandrogenizmu, a tego najczęściej oczekują pacjentki. W większości przeprowadzonych badań metformina nie była skuteczniejsza od OC w leczeniu objawów hiperandrogenizacji lub w ogóle nie

poprawiała hirsutyzmu [226]. Ponieważ nie można oddzielać konieczności skutecznego leczenia objawowego i redukcji ryzyka sercowo-naczyniowego, w wybranych przypadkach warto rozważyć terapię łączoną. Doświadczenia własne wskazują na hiperaddycyjny efekt w terapii objawowej PCOS, natomiast ocena wpływu takiego połączenia na ryzyko sercowo-naczyniowe wymaga dalszych badań, choć wstępne doniesienia są zachęcające [200].

6. WNIOSKI

1. Nie wykazano zależności pomiędzy fenotypem i obecnością zespołu metabolicznego, a wskaźnikami procesu zapalnego i stężeniem adipokin u kobiet z PCOS.
2. Czteromiesięczne leczenie metforminą pacjentek z PCOS bez istotnych zaburzeń metabolicznych nie wpłynęło na poziom leukocytozy, stężenie CRP, sVCAM-1 i adipokin: MCP-1, IL-18, adiponektyny, RBP 4 oraz na objawy hiperandrogenizmu. Wydaje się, że nie ma wskazań do terapii metforminą w profilaktyce powikłań sercowo-naczyniowych w tej grupie.
3. Czteromiesięczne stosowanie EE-CA nie wpłynęło na poziom leukocytozy i stężenia sVCAM-1, MCP-1, IL-18, adiponektyny i RBP 4. Istotnie zwiększyło natomiast stężenia CRP, TAG oraz HDL w surowicy. Terapia EE-CA była skuteczna w leczeniu objawów hiperandrogenizmu, ale ustalenie znaczenia izolowanego wzrostu stężenia CRP w jej trakcie wymaga dalszych badań.
4. Oba rodzaje leczenia były źle tolerowane przez dużą liczbę badanych. Terapia PCOS jest trudna i wymaga indywidualizacji.

7. STRESZCZENIE (ABSTRACT)

WSTĘP: Zespół policystycznych jajników (PCOS) poza zaburzeniami miesiączkowania i hiperandrogenizmem charakteryzuje się obwodową opornością na insulinę i hiperinsulinemią. Zaburzenia te prowadzą do rozwoju cukrzycy typu 2 i powikłań sercowo-naczyniowych. Wiadomo również, że przewlekły proces zapalny i zmiany stężeń adipokin odgrywają rolę w patogenezie zespołu metabolicznego i cukrzycy. Celem pracy było porównanie wpływu terapii metforminą oraz preparatem antykoncepcyjnym zawierającym etynyloestradiol i cyproteron (EE-CA) na wybrane wskaźniki procesu zapalnego i adipokiny w surowicy kobiet z PCOS.

MATERIAŁ I METODY: W grupie 44 kobiet z PCOS w wieku od 18 do 36 lat (średni wiek 24,9 lat; 95 % CI: 24,0–26,4, średnie BMI 24,9 kg/m²; 95 % CI: 23,9 – 26,5) oceniono zależności pomiędzy stwierdzanymi w surowicy stężeniami adipokin i wskaźników procesu zapalnego, a zespołem cech fenotypowych i nasileniem zaburzeń metabolicznych. Następnie 42 uczestniczki rozdzielono do grupy leczonej metforminą (1700 mg/d) lub preparatem antykoncepcyjnym zawierającym 35 µg etynyloestradiolu oraz 2 mg octanu cyproteronu. Po 4 miesiącach terapii, leki odstawiono na okres dwóch miesięcy (wash-out period), a następnie dokonano krzyżowej zamiany leku (crossing-over). Przed i po każdym okresie leczenia pobierano krew w celu oznaczeń podstawowych parametrów metabolicznych i hormonalnych, a także CRP, IL-6, IL-10, IL-18, adiponektyny, MCP-1, sVCAM-1 i RBP-4.

WYNIKI: Nie wykazano zależności pomiędzy fenotypem i obecnością zespołu metabolicznego, a wskaźnikami procesu zapalnego i stężeniem adipokin u kobiet z PCOS. Nie zaobserwowano także istotnego statystycznie wpływu czteromiesięcznej terapii metforminą na stężenia badanych wskaźników stanu zapalnego i adipokin. U pacjentek stosujących EE-CA stwierdzono natomiast wzrost stężeń CRP w surowicy (przed terapią: 0,77 mg/l, 95 % CI: 0,70-2,18; po terapii: 1,70 mg/l, 95 % CI: 1,65-3,69; $p < 0.001$), podczas gdy stężenia IL-18, adiponektyny, MCP-1, sVCAM-1 i RBP-4 pozostały bez zmian. Stężenia IL-6 i IL-10 w surowicy były niewykrywalne u większości pacjentek

WNIOSKI: W grupie młodych pacjentek z PCOS i prawidłową średnią wartością BMI czteromiesięczna terapia metforminą nie miała istotnego wpływu na poziomy

wybranych wskaźników zapalnych i adipokin w surowicy, natomiast leczenie preparatem antykoncepcyjnym zawierającym EE-CA znacząco zwiększyło stężenie CRP. Ponieważ nie zaobserwowano istotnego wpływu leczenia preparatem EE-CA na inne wskaźniki stanu zapalnego i adipokiny można przypuszczać, że działanie to spowodowane jest efektem „pierwszego przejścia” estrogenów przez wątrobę. Ocena ewentualnego znaczenia tego zjawiska dla ryzyka sercowo-naczyniowego u kobiet z zespołem policystycznych jajników wymaga dalszych badań. Wydaje się, że nie ma wskazań do terapii metforminą w celu redukcji powikłań sercowo-naczyniowych w grupie pacjentek z PCOS bez istotnych zaburzeń metabolicznych.

INTRODUCTION: In addition to chronic anovulation and hyperandrogenemia, polycystic ovary syndrome (PCOS) is also characterized by peripheral insulin resistance and hyperinsulinemia which in turn lead to the development of diabetes, atherosclerosis and coronary heart disease. Serum markers of inflammation are being increasingly recognized as predictors of atherosclerosis and cardiovascular risk, and chronic low-grade inflammation has been recently proposed to play a role in the pathogenesis of metabolic syndrome and type 2 diabetes. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of treatment with metformin and the commonly used ethinylestradiol-cyproterone acetate (EE-CA) containing oral contraceptive (OC) on selected serum inflammatory markers and adipokines in women with PCOS.

SUBJECTS AND METHODS: Forty-two women with PCOS (age range 18 – 36yrs, body mass index $24,9 \text{ kg/m}^2$) were randomly assigned to treatment with metformin (1700 mg/day) or ethinylestradiol-cyproterone acetate containing oral contraceptive for 4 months. After 2 months wash-out period, treatments were crossed-over. Blood for the analyses was drawn before and after treatment and apart from basic metabolic and hormonal analyses, CRP, IL-6, IL-10, IL-18, adiponectin, MCP-1, sVCAM-1 and RBP-4 were measured.

RESULTS: There were not observed any significant effects of 4 months treatment with metformin on serum levels of CRP, IL-18, adiponectin, MCP-1, sVCAM-1 and RBP-4. However, treatment with EE-CA for 6 months significantly raised serum CRP levels from 0,77 mg/l (95 % CI: 0,70-2,18) to 1,70 mg/l, (95 % CI: 1,65-3,69; $p < 0.00$) whereas serum levels of IL-18, adiponectin, MCP-1, sVCAM-1 and RBP-4 were unaffected.

CONCLUSIONS: 4 months metformin treatment in patients with PCOS does not have any significant effect on the selected serum markers of inflammation and adipokines whereas treatment with EE-CA containing OC significantly raises serum CRP levels. Since treatment of the PCOS patients with OC did not have any impact on other inflammatory markers we can speculate that this effect is caused by the liver first-pass phenomenon. However, further studies are warranted to find out if this can further confer cardiovascular risk among these patients.

8. LITERATURA

- [1] Azziz R, Woods KS, Reyna R *et al.* The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2745-9.
- [2] Adams J, Polson DW, Franks S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 293:355-9.
- [3] Polson DW, Adams J, Wadsworth J *et al.* Polycystic ovaries--a common finding in normal women. *Lancet* 1988; 1:870-2.
- [4] Norman RJ, Dewailly D, Legro RS *et al.* Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007; 370:685-97.
- [5] Ferriman D, Purdie AW. The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1979; 11:291-300.
- [6] Yildiz BO, Yarali H, Oguz H *et al.* Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2031-6.
- [7] Recabarren SE, Smith R, Rios R *et al.* Metabolic profile in sons of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1820-6.
- [8] Fauser BC, Pache TD, Hop WC *et al.* The significance of a single serum LH measurement in women with cycle disturbances: discrepancies between immunoreactive and bioactive hormone estimates. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 37:445-52.
- [9] Jonard S, Robert Y, Cortet-Rudelli C *et al.* Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles? *Hum Reprod* 2003; 18:598-603.
- [10] Azziz R, Carmina E, Dewailly D *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; 91:4237-45.

- [11] Pasquali R, Casimirri F. The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome in premenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993; 39:1-16.
- [12] Guzick DS. Ovulation induction management of PCOS. *Clin Obstet Gynecol* 2007; 50:255-67.
- [13] Teixeira Filho FL, Baracat EC, Lee TH *et al.* Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1337-44.
- [14] Maciel GA, Baracat EC, Benda JA *et al.* Stockpiling of transitional and classic primary follicles in ovaries of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5321-7.
- [15] Homburg R. Pregnancy complications in PCOS. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006; 20:281-92.
- [16] Lo JC, Feigenbaum SL, Escobar GJ *et al.* Increased prevalence of gestational diabetes mellitus among women with diagnosed polycystic ovary syndrome: a population-based study. *Diabetes Care* 2006; 29:1915-7.
- [17] Boomsma CM, Eijkemans MJ, Hughes EG *et al.* A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2006; 12:673-83.
- [18] Marasco L, Marmet C, Shell E. Polycystic ovary syndrome: a connection to insufficient milk supply? *J Hum Lact* 2000; 16:143-8.
- [19] Gibson M. Reproductive health and polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 1995; 98:67S-75S.
- [20] Hardiman P, Pillay OC, Atiomo W. Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma. *Lancet* 2003; 361:1810-2.
- [21] Gadducci A, Gargini A, Palla E *et al.* Polycystic ovary syndrome and gynecological cancers: is there a link? *Gynecol Endocrinol* 2005; 20:200-8.

- [22] Elsenbruch S, Hahn S, Kowalsky D *et al.* Quality of life, psychosocial well-being, and sexual satisfaction in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5801-7.
- [23] Coffey S, Bano G, Mason HD. Health-related quality of life in women with polycystic ovary syndrome: a comparison with the general population using the Polycystic Ovary Syndrome Questionnaire (PCOSQ) and the Short Form-36 (SF-36). *Gynecol Endocrinol* 2006; 22:80-6.
- [24] Hahn S, Benson S, Elsenbruch S *et al.* Metformin treatment of polycystic ovary syndrome improves health-related quality-of-life, emotional distress and sexuality. *Hum Reprod* 2006; 21:1925-34.
- [25] Hollinrake E, Abreu A, Maifeld M *et al.* Increased risk of depressive disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2007; 87:1369-76.
- [26] Tan S, Hahn S, Benson S *et al.* Psychological implications of infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008; 23:2064-71.
- [27] Kerchner A, Lester W, Stuart SP *et al.* Risk of depression and other mental health disorders in women with polycystic ovary syndrome: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2009; 91:207-12.
- [28] Barnard L, Ferriday D, Guenther N *et al.* Quality of life and psychological well being in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007; 22:2279-86.
- [29] Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC *et al.* Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:165-9.
- [30] Gambineri A, Pelusi C, Vicennati V *et al.* Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26:883-96.
- [31] Kirchengast S, Huber J. Body composition characteristics and body fat distribution in lean women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2001; 16:1255-60.

- [32] Yildirim B, Sabir N, Kaleli B. Relation of intra-abdominal fat distribution to metabolic disorders in nonobese patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79:1358-64.
- [33] Carmina E, Bucchieri S, Esposito A *et al.* Abdominal fat quantity and distribution in women with polycystic ovary syndrome and extent of its relation to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2500-5.
- [34] Pirwany IR, Fleming R, Greer IA *et al.* Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 54:447-53.
- [35] Strowitzki T, Halser B, Demant T. Body fat distribution, insulin sensitivity, ovarian dysfunction and serum lipoproteins in patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2002; 16:45-51.
- [36] Valkenburg O, Steegers-Theunissen RP, Smedts HP *et al.* A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:470-6.
- [37] Amowitz LL, Sobel BE. Cardiovascular consequences of polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28:439-58, viii.
- [38] Legro RS, Urbanek M, Kunselman AR *et al.* Self-selected women with polycystic ovary syndrome are reproductively and metabolically abnormal and undertreated. *Fertil Steril* 2002; 78:51-7.
- [39] Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595-607.
- [40] Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149:1514-20.
- [41] Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18:774-800.

- [42] Diamanti-Kandarakis E, Baillargeon JP, Iuorno MJ *et al.* A modern medical quandary: polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and oral contraceptive pills. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1927-32.
- [43] Sam S, Dunaif A. Polycystic ovary syndrome: syndrome XX? *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14:365-70.
- [44] Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 50:113-6.
- [45] Zhang LH, Rodriguez H, Ohno S *et al.* Serine phosphorylation of human P450c17 increases 17,20-lyase activity: implications for adrenarche and the polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92:10619-23.
- [46] Nestler JE, Jakubowicz DJ, de Vargas AF *et al.* Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2001-5.
- [47] Pasquali R, Casimirri F, Vicennati V. Weight control and its beneficial effect on fertility in women with obesity and polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997; 12 Suppl 1:82-7.
- [48] Crosignani PG, Colombo M, Vegetti W *et al.* Overweight and obese anovulatory patients with polycystic ovaries: parallel improvements in anthropometric indices, ovarian physiology and fertility rate induced by diet. *Hum Reprod* 2003; 18:1928-32.
- [49] Velazquez EM, Mendoza S, Hamer T *et al.* Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism* 1994; 43:647-54.
- [50] Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE *et al.* Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346:393-403.

- [51] Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000; 21:697-738.
- [52] Schaffler A, Muller-Ladner U, Scholmerich J *et al.* Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev* 2006; 27:449-67.
- [53] Scheen AJ. Pathophysiology of type 2 diabetes. *Acta Clin Belg* 2003; 58:335-41.
- [54] Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2548-56.
- [55] Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL *et al.* Visceral adiposity and the risk of impaired glucose tolerance: a prospective study among Japanese Americans. *Diabetes Care* 2003; 26:650-5.
- [56] Cnop M. Fatty acids and glucolipototoxicity in the pathogenesis of Type 2 diabetes. *Biochem Soc Trans* 2008; 36:348-52.
- [57] Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD *et al.* NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 1997; 40:1286-92.
- [58] Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2792-800.
- [59] Trayhurn P. Adipose tissue in obesity--an inflammatory issue. *Endocrinology* 2005; 146:1003-5.
- [60] Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM *et al.* Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46:459-69.
- [61] Neels JG, Olefsky JM. Inflamed fat: what starts the fire? *J Clin Invest* 2006; 116:33-5.

- [62] Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C *et al.* Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1023-33.
- [63] Weisberg SP, McCann D, Desai M *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796-808.
- [64] Curat CA, Miranville A, Sengenès C *et al.* From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 2004; 53:1285-92.
- [65] Xu H, Barnes GT, Yang Q *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003; 112:1821-30.
- [66] Fain JN, Madan AK, Hiler ML *et al.* Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004; 145:2273-82.
- [67] Festa A, D'Agostino R, Jr., Williams K *et al.* The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25:1407-15.
- [68] Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS *et al.* Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1989; 9:567-78.
- [69] Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR *et al.* Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet* 1999; 353:1649-52.
- [70] Nieto FJ, Szklo M, Folsom AR *et al.* Leukocyte count correlates in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* 1992; 136:525-37.
- [71] Pradhan AD, Manson JE, Rifai N *et al.* C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286:327-34.

- [72] Albert CM, Ma J, Rifai N *et al.* Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation* 2002; 105:2595-9.
- [73] Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ *et al.* Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101:1767-72.
- [74] Ofei F, Hurel S, Newkirk J *et al.* Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* 1996; 45:881-5.
- [75] Lo J, Bernstein LE, Canavan B *et al.* Effects of TNF-alpha neutralization on adipocytokines and skeletal muscle adiposity in the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293:E102-9.
- [76] Bruun JM, Lihn AS, Verdich C *et al.* Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285:E527-33.
- [77] Degawa-Yamauchi M, Moss KA, Bovenkerk JE *et al.* Regulation of adiponectin expression in human adipocytes: effects of adiposity, glucocorticoids, and tumor necrosis factor alpha. *Obes Res* 2005; 13:662-9.
- [78] Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A *et al.* Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:4196-200.
- [79] Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:847-50.
- [80] Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC *et al.* The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann Intern Med* 1998; 128:127-37.

- [81] Mysliwska J, Bryl E, Foerster J *et al.* Increase of interleukin 6 and decrease of interleukin 2 production during the ageing process are influenced by the health status. *Mech Ageing Dev* 1998; 100:313-28.
- [82] Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO *et al.* Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1151-8.
- [83] MacGowan GA, Mann DL, Kormos RL *et al.* Circulating interleukin-6 in severe heart failure. *Am J Cardiol* 1997; 79:1128-31.
- [84] Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP *et al.* Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* 1999; 106:506-12.
- [85] Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L *et al.* Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation* 2001; 103:947-53.
- [86] Juge-Aubry CE, Somme E, Pernin A *et al.* Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10. *Cytokine* 2005; 29:270-4.
- [87] van Exel E, Gussekloo J, de Craen AJ *et al.* Low production capacity of interleukin-10 associates with the metabolic syndrome and type 2 diabetes : the Leiden 85-Plus Study. *Diabetes* 2002; 51:1088-92.
- [88] Esposito K, Pontillo A, Giugliano F *et al.* Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1055-8.
- [89] Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW *et al.* Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107:2109-14.
- [90] Straczkowski M, Kowalska I, Nikolajuk A *et al.* Plasma interleukin-10 concentration is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals. *Diabetes Care* 2005; 28:2036-7.

- [91] Lindegaard B, Hansen AB, Pilegaard H *et al.* Adipose tissue expression of IL-18 and HIV-associated lipodystrophy. *AIDS* 2004; 18:1956-8.
- [92] Aso Y, Okumura K, Takebayashi K *et al.* Relationships of plasma interleukin-18 concentrations to hyperhomocysteinemia and carotid intimal-media wall thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26:2622-7.
- [93] Mallat Z, Corbaz A, Scoazec A *et al.* Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. *Circulation* 2001; 104:1598-603.
- [94] Blankenberg S, Tiret L, Bickel C *et al.* Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation* 2002; 106:24-30.
- [95] Ouchi N, Kihara S, Arita Y *et al.* Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103:1057-63.
- [96] Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2563-8.
- [97] Weyer C, Funahashi T, Tanaka S *et al.* Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-5.
- [98] Kowalska I, Straczkowski M, Nikolajuk A *et al.* Insulin resistance, serum adiponectin, and proinflammatory markers in young subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism* 2008; 57:1539-44.
- [99] Xydakis AM, Case CC, Jones PH *et al.* Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2697-703.
- [100] Yamamoto Y, Hirose H, Saito I *et al.* Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance: two-year follow-up study in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:87-90.

- [101] Daimon M, Oizumi T, Saitoh T *et al.* Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese Population: the Funagata study. *Diabetes Care* 2003; 26:2015-20.
- [102] Spranger J, Kroke A, Mohlig M *et al.* Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2003; 361:226-8.
- [103] Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS *et al.* Adiponectin and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes* 2004; 53:2473-8.
- [104] Koenig W, Khuseyinova N, Baumert J *et al.* Serum concentrations of adiponectin and risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease in apparently healthy middle-aged men: results from the 18-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48:1369-77.
- [105] Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S *et al.* Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:85-9.
- [106] Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS *et al.* Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004; 291:1730-7.
- [107] Nakamura Y, Shimada K, Fukuda D *et al.* Implications of plasma concentrations of adiponectin in patients with coronary artery disease. *Heart* 2004; 90:528-33.
- [108] Kowalska I, Straczkowski M, Nikolajuk A *et al.* Plasma adiponectin concentration and tumor necrosis factor-alpha system activity in lean non-diabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Eur J Endocrinol* 2006; 154:319-24.
- [109] Schulze MB, Shai I, Rimm EB *et al.* Adiponectin and future coronary heart disease events among men with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54:534-9.
- [110] Yang WS, Lee WJ, Funahashi T *et al.* Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3815-9.

- [111] Kasapis C, Thompson PD. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1563-9.
- [112] Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P *et al.* Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:200-6.
- [113] Maeda N, Takahashi M, Funahashi T *et al.* PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001; 50:2094-9.
- [114] Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest* 1991; 88:1121-7.
- [115] Herder C, Baumert J, Thorand B *et al.* Chemokines as risk factors for type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg study, 1984-2002. *Diabetologia* 2006; 49:921-9.
- [116] Kanda H, Tateya S, Tamori Y *et al.* MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 2006; 116:1494-505.
- [117] Cybulsky MI, Iiyama K, Li H *et al.* A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 107:1255-62.
- [118] Chen YH, Lin SJ, Chen YL *et al.* Anti-inflammatory effects of different drugs/agents with antioxidant property on endothelial expression of adhesion molecules. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2006; 6:279-304.
- [119] Kanai M, Raz A, Goodman DS. Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 1968; 47:2025-44.
- [120] Tsutsumi C, Okuno M, Tannous L *et al.* Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1992; 267:1805-10.

- [121] Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S *et al.* Retinol binding protein-4 levels and clinical features of type 2 diabetes patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2712-9.
- [122] Yang Q, Graham TE, Mody N *et al.* Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005; 436:356-62.
- [123] Graham TE, Yang Q, Bluher M *et al.* Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006; 354:2552-63.
- [124] Craig RL, Chu WS, Elbein SC. Retinol binding protein 4 as a candidate gene for type 2 diabetes and prediabetic intermediate traits. *Mol Genet Metab* 2007; 90:338-44.
- [125] Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH *et al.* Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102:1000-6.
- [126] Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* 2004; 44:6-11.
- [127] Olsen MH, Christensen MK, Hansen TW *et al.* High-sensitivity C-reactive protein is only weakly related to cardiovascular damage after adjustment for traditional cardiovascular risk factors. *J Hypertens* 2006; 24:655-61.
- [128] Kelly CC, Lyall H, Petrie JR *et al.* Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:2453-5.
- [129] Boulman N, Levy Y, Leiba R *et al.* Increased C-reactive protein levels in the polycystic ovary syndrome: a marker of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2160-5.
- [130] Puder JJ, Varga S, Kraenzlin M *et al.* Central fat excess in polycystic ovary syndrome: relation to low-grade inflammation and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:6014-21.

- [131] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-9.
- [132] Katz A, Nambi SS, Mather K *et al.* Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2402-10.
- [133] Mather KJ, Hunt AE, Steinberg HO *et al.* Repeatability characteristics of simple indices of insulin resistance: implications for research applications. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:5457-64.
- [134] Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2694-8.
- [135] McLaughlin T, Abbasi F, Cheal K *et al.* Use of metabolic markers to identify overweight individuals who are insulin resistant. *Ann Intern Med* 2003; 139:802-9.
- [136] Diamanti-Kandarakis E, Spina G, Kouli C *et al.* Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4666-73.
- [137] Orio F, Jr., Palomba S, Cascella T *et al.* Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:4588-93.
- [138] Kravariti M, Naka KK, Kalantaridou SN *et al.* Predictors of endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5088-95.
- [139] Meyer C, McGrath BP, Teede HJ. Overweight women with polycystic ovary syndrome have evidence of subclinical cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5711-6.

- [140] Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K *et al.* Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2414-21.
- [141] Luque-Ramirez M, Mendieta-Azcona C, Alvarez-Blasco F *et al.* Androgen excess is associated with the increased carotid intima-media thickness observed in young women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007; 22:3197-203.
- [142] Heutling D, Schulz H, Nickel I *et al.* Asymmetrical dimethylarginine, inflammatory and metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome before and after metformin treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:82-90.
- [143] Christian RC, Dumesic DA, Behrenbeck T *et al.* Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2562-8.
- [144] Talbott EO, Zborowski JV, Rager JR *et al.* Evidence for an association between metabolic cardiovascular syndrome and coronary and aortic calcification among women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5454-61.
- [145] Shroff R, Kerchner A, Maifeld M *et al.* Young obese women with polycystic ovary syndrome have evidence of early coronary atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:4609-14.
- [146] Shaw LJ, Bairey Merz CN, Azziz R *et al.* Postmenopausal women with a history of irregular menses and elevated androgen measurements at high risk for worsening cardiovascular event-free survival: results from the National Institutes of Health--National Heart, Lung, and Blood Institute sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1276-84.
- [147] Wild S, Pierpoint T, McKeigue P *et al.* Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52:595-600.
- [148] Vrbikova J, Cifkova R, Jirkovska A *et al.* Cardiovascular risk factors in young Czech females with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2003; 18:980-4.

- [149] Talbott EO, Zborowski J, Rager J *et al.* Is there an independent effect of polycystic ovary syndrome (PCOS) and menopause on the prevalence of subclinical atherosclerosis in middle aged women? *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4:453-62.
- [150] Dunaif A, Segal KR, Futterweit W *et al.* Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989; 38:1165-74.
- [151] Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002; 77:1095-105.
- [152] Diamanti-Kandarakis E, Panidis D. Unravelling the phenotypic map of polycystic ovary syndrome (PCOS): a prospective study of 634 women with PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67:735-42.
- [153] Chae SJ, Kim JJ, Choi YM *et al.* Clinical and biochemical characteristics of polycystic ovary syndrome in Korean women. *Hum Reprod* 2008; 23:1924-31.
- [154] Zdrojewski T, Bandosz P, Szpakowski P *et al.* Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w Polsce. Wyniki badania NATPOL PLUS. *Kardiologia Polska* 2004; 61, Supl. 4.
- [155] Carmina E, Napoli N, Longo RA *et al.* Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome (PCOS): lower prevalence in southern Italy than in the USA and the influence of criteria for the diagnosis of PCOS. *Eur J Endocrinol* 2006; 154:141-5.
- [156] Azziz R. Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and molecular defects of insulin signaling. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4085-7.
- [157] Glueck CJ, Papanna R, Wang P *et al.* Incidence and treatment of metabolic syndrome in newly referred women with confirmed polycystic ovarian syndrome. *Metabolism* 2003; 52:908-15.
- [158] Carmina E, Azziz R. Diagnosis, phenotype, and prevalence of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006; 86 Suppl 1:S7-8.

- [159] Fulghesu AM, Angioni S, Portoghese E *et al.* Failure of the homeostatic model assessment calculation score for detecting metabolic deterioration in young patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006; 86:398-404.
- [160] Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Alexandraki K *et al.* Failure of mathematical indices to accurately assess insulin resistance in lean, overweight, or obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1273-6.
- [161] Zimmet PZ. Diabetes epidemiology as a tool to trigger diabetes research and care. *Diabetologia* 1999; 42:499-518.
- [162] Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ *et al.* Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1929-35.
- [163] Cheung LP, Ma RC, Lam PM *et al.* Cardiovascular risks and metabolic syndrome in Hong Kong Chinese women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008; 23:1431-8.
- [164] Vrbikova J, Vondra K, Cibula D *et al.* Metabolic syndrome in young Czech women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20:3328-32.
- [165] Kowalska I, Kosk A, Strączkowski M. Zespół metaboliczny oraz dysfunkcja śródbłonna naczyniowego u pacjentek z zespołem policystycznych jajników. *Endokrynologia Polska* 2008; 59 supl. A: 93-4.
- [166] Dokras A, Bochner M, Hollinrake E *et al.* Screening women with polycystic ovary syndrome for metabolic syndrome. *Obstet Gynecol* 2005; 106:131-7.
- [167] Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K *et al.* Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:48-53.
- [168] Costa LO, dos Santos MP, Oliveira M *et al.* Low-grade chronic inflammation is not accompanied by structural arterial injury in polycystic ovary syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 81:179-83.

- [169] Tarkun I, Arslan BC, Canturk Z *et al.* Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5592-6.
- [170] Orio F, Jr., Palomba S, Cascella T *et al.* The increase of leukocytes as a new putative marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2-5.
- [171] Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Alexandraki K *et al.* Indices of low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin. *Hum Reprod* 2006; 21:1426-31.
- [172] Gonzalez F, Thusu K, Abdel-Rahman E *et al.* Elevated serum levels of tumor necrosis factor alpha in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1999; 48:437-41.
- [173] Vgontzas AN, Trakada G, Bixler EO *et al.* Plasma interleukin 6 levels are elevated in polycystic ovary syndrome independently of obesity or sleep apnea. *Metabolism* 2006; 55:1076-82.
- [174] Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Villuendas G *et al.* Serum interleukin-18 concentrations are increased in the polycystic ovary syndrome: relationship to insulin resistance and to obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:806-11.
- [175] Zhang YF, Yang YS, Hong J *et al.* Elevated serum levels of interleukin-18 are associated with insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2006; 29:419-23.
- [176] Sieminska L, Marek B, Kos-Kudla B *et al.* Serum adiponectin in women with polycystic ovarian syndrome and its relation to clinical, metabolic and endocrine parameters. *J Endocrinol Invest* 2004; 27:528-34.
- [177] Carmina E, Orio F, Palomba S *et al.* Evidence for altered adipocyte function in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:389-94.

- [178] Lee JW, Im JA, Lee DC *et al.* Retinol-binding protein in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 68:786-90.
- [179] Hu WH, Qiao J, Li MZ. Association of monocyte chemoattractant protein-1 and the clinical characteristics of polycystic ovary syndrome: analysis of 65 cases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2007; 87:721-4.
- [180] Mohlig M, Spranger J, Osterhoff M *et al.* The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:525-32.
- [181] Nasiek M, Kos-Kudla B, Ostrowska Z *et al.* Acute phase proteins: C-reactive protein and fibrinogen in young women with polycystic ovary syndrome. *Pathophysiology* 2007; 14:23-8.
- [182] Moran LJ, Noakes M, Clifton PM *et al.* C-reactive protein before and after weight loss in overweight women with and without polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2944-51.
- [183] Benson S, Janssen OE, Hahn S *et al.* Obesity, depression, and chronic low-grade inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *Brain Behav Immun* 2008; 22:177-84.
- [184] Barber TM, Hazell M, Christodoulides C *et al.* Serum levels of retinol-binding protein 4 and adiponectin in women with polycystic ovary syndrome: associations with visceral fat but no evidence for fat mass-independent effects on pathogenesis in this condition. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:2859-65.
- [185] Hutchison SK, Harrison C, Stepto N *et al.* Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 2008; 31:1427-32.
- [186] Spranger J, Mohlig M, Wegewitz U *et al.* Adiponectin is independently associated with insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61:738-46.

- [187] Hahn S, Backhaus M, Broecker-Preuss M *et al.* Retinol-binding protein 4 levels are elevated in polycystic ovary syndrome women with obesity and impaired glucose metabolism. *Eur J Endocrinol* 2007; 157:201-7.
- [188] Costanzo ES, Lutgendorf SK, Sood AK *et al.* Psychosocial factors and interleukin-6 among women with advanced ovarian cancer. *Cancer* 2005; 104:305-13.
- [189] Bik W, Baranowska-Bik A, Wolinska-Witort E *et al.* The relationship between metabolic status and levels of adiponectin and ghrelin in lean women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2007; 23:325-31.
- [190] Ouchi N, Kihara S, Arita Y *et al.* Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100:2473-6.
- [191] De Leo V, Ia Marca A, Petraglia F. Insulin-lowering agents in the management of polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev* 2003; 24:633-67.
- [192] Morin-Papunen L, Rautio K, Ruukonen A *et al.* Metformin reduces serum C-reactive protein levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4649-54.
- [193] Orio F, Manguso F, Di Biase S *et al.* Metformin administration improves leukocyte count in women with polycystic ovary syndrome: a 6-month prospective study. *Eur J Endocrinol* 2007; 157:69-73.
- [194] Jakubowska J, Bohdanowicz-Pawlak A, Milewicz A *et al.* Plasma cytokines in obese women with polycystic ovary syndrome, before and after metformin treatment. *Gynecol Endocrinol* 2008; 24:378-84.
- [195] Kjøtrod SB, Romundstad P, von Düring V *et al.* C-reactive protein levels are unaffected by metformin during pretreatment and an IVF cycle in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008; 89:635-41.
- [196] Luque-Ramirez M, Alvarez-Blasco F, Escobar-Morreale HF. Antiandrogenic contraceptives increase serum adiponectin in obese polycystic ovary syndrome patients. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17:3-9.

- [197] Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE *et al.* Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA* 2002; 288:980-7.
- [198] Rietzschel E, DeBuyzere M, DeBaquer D *et al.* Abstract 3537: Oral Contraceptives Cause Major C-reactive Protein Rises in the Female General Population. AHA 2007 Scientific Sessions. *Circulation* 2007; 116:II_800-II_801.
- [199] Cauci S, Di Santolo M, Culhane JF *et al.* Effects of third-generation oral contraceptives on high-sensitivity C-reactive protein and homocysteine in young women. *Obstet Gynecol* 2008; 111:857-64.
- [200] Ibanez L, de Zegher F. Ethinylestradiol-drospirenone, flutamide-metformin, or both for adolescents and women with hyperinsulinemic hyperandrogenism: opposite effects on adipocytokines and body adiposity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1592-7.
- [201] Banaszewska B, Pawelczyk L, Spaczynski RZ *et al.* Effects of simvastatin and oral contraceptive agent on polycystic ovary syndrome: prospective, randomized, crossover trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:456-61.
- [202] Baillargeon JP, McClish DK, Essah PA *et al.* Association between the current use of low-dose oral contraceptives and cardiovascular arterial disease: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:3863-70.
- [203] Yildiz BO, Haznedaroglu IC, Kirazli S *et al.* Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3871-5.
- [204] Vrbikova J, Cibula D. Combined oral contraceptives in the treatment of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2005; 11:277-91.
- [205] Nader S, Riad-Gabriel MG, Saad MF. The effect of a desogestrel-containing oral contraceptive on glucose tolerance and leptin concentrations in hyperandrogenic women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:3074-7.

- [206] Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM *et al.* 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; 85:3161-8.
- [207] Korytkowski MT, Mookan M, Horwitz MJ *et al.* Metabolic effects of oral contraceptives in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3327-34.
- [208] Dahlgren E, Landin K, Krotkiewski M *et al.* Effects of two antiandrogen treatments on hirsutism and insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1998; 13:2706-11.
- [209] Vrbikova J, Stanicka S, Dvorakova K *et al.* Metabolic and endocrine effects of treatment with peroral or transdermal oestrogens in conjunction with peroral cyproterone acetate in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:215-23.
- [210] Meyer C, McGrath BP, Teede HJ. Effects of medical therapy on insulin resistance and the cardiovascular system in polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 2007; 30:471-8.
- [211] Cibula D, Sindelka G, Hill M *et al.* Insulin sensitivity in non-obese women with polycystic ovary syndrome during treatment with oral contraceptives containing low-androgenic progestin. *Hum Reprod* 2002; 17:76-82.
- [212] Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R *et al.* Metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in the treatment of nonobese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:148-56.
- [213] Harborne L, Fleming R, Lyall H *et al.* Metformin or antiandrogen in the treatment of hirsutism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4116-23.
- [214] Luque-Ramirez M, Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI *et al.* Comparison of ethinyl-estradiol plus cyproterone acetate versus metformin effects on classic metabolic cardiovascular risk factors in women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2453-61.

- [215] Pasquali R, Gambineri A, Anconetani B *et al.* The natural history of the metabolic syndrome in young women with the polycystic ovary syndrome and the effect of long-term oestrogen-progestagen treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 50:517-27.
- [216] Escobar-Morreale HF, Lasuncion MA, Sancho J. Treatment of hirsutism with ethinyl estradiol-desogestrel contraceptive pills has beneficial effects on the lipid profile and improves insulin sensitivity. *Fertil Steril* 2000; 74:816-9.
- [217] Cagnacci A, Paoletti AM, Renzi A *et al.* Glucose metabolism and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome during therapy with oral contraceptives containing cyproterone acetate or desogestrel. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:3621-5.
- [218] Nader S, Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome, oral contraceptives and metabolic issues: new perspectives and a unifying hypothesis. *Hum Reprod* 2007; 22:317-22.
- [219] Gallo MF, Grimes DA, Schulz KF *et al.* Combination estrogen-progestin contraceptives and body weight: systematic review of randomized controlled trials. *Obstet Gynecol* 2004; 103:359-73.
- [220] Ibanez L, De Zegher F. Flutamide-metformin therapy to reduce fat mass in hyperinsulinemic ovarian hyperandrogenism: effects in adolescents and in women on third-generation oral contraception. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4720-4.
- [221] Barbieri RL, Speroff L, Walker AM *et al.* Therapeutic controversy: The safety of third-generation oral contraceptives. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1822-9.
- [222] Rietzschel E, DeBuyzere M, Segers P *et al.* Abstract 3002: Long Term Oral Contraceptive Use is an Independent Risk Factor for Arterial Stiffening AHA 2007 Scientific Sessions. *Circulation* 2008; 118:S_803-S_804.
- [223] Rietzschel E, DeBuyzere M, DeBaquer D *et al.* Abstract 3614: Anticonceptive Drug Use And Increased Carotid and Femoral Plaque Prevalence: Population Data From Asklepios. AHA 2007 Scientific Sessions. *Circulation* 2007; 116: II_820.

- [224] Orchard TJ, Temprosa M, Goldberg R *et al.* The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. *Ann Intern Med* 2005; 142:611-9.
- [225] Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003; 327:951-3.
- [226] Mathur R, Alexander CJ, Yano J *et al.* Use of metformin in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199:596-609.

9. ANEKS

Ankieta

PMOM-Co ile dni występują miesiączki?

1. Czy stwierdza się u Pani (obecnie lub w przeszłości):

- Nieregularne miesiączki TAK/NIE Od kiedy?.....
- Brak miesiączek TAK/NIE Od kiedy?.....

Proszę podać daty pierwszego dnia cyklu (miesiączki) w ciągu ostatnich sześciu miesięcy

.....

- Nadmierne owłosienie lub/i występowanie owłosienia w miejscach dla kobiet nietypowych TAK/NIE Od kiedy?.....

- Trądzik TAK/NIE Gdzie?.....

- Nadmierne przetłuszczanie się włosów TAK/NIE

- Wypadanie włosów TAK/NIE

2. Jeśli wymienione problemy występowały w przeszłości czy była Pani leczona?

TAK / NIE Czym, jak długo i z jakim skutkiem?

.....

Czy problemy te nasiliły się wraz z przyrostem masy ciała? TAK/NIE

3. Czy ma Pani problemy z utrzymaniem należytej masy ciała ? TAK / NIE

Czy stosuje Pani jakąś dietę TAK / NIE .Jaką?.....

.....

4. Czy podobne problemy występują / występowały u matki lub siostr? TAK/NIE

Czy stwierdza się przedwczesne łysienie rozpoczynające się od „zakoli” u braci? TAK/NIE

5. Czy w Pani rodzinie stwierdzono:

- DM typu 1 lub 2? TAK / NIE U kogo?.....W jakim wieku?.....

- HA? TAK / NIE

- Udary mózgu? TAK / NIE

- Hipercholesterolemię? TAK / NIE

- Otyłość? TAK / NIE
 - Przedwczesne wystąpienie choroby wieńcowej (u kobiet przed 55 rż.,
u mężczyzn przed 45 rż)? TAK / NIE
6. Czy obserwuje Pani u siebie bóle lub plamienie w środku cyklu? TAK / NIE
Czy występuje napięcie piersi przed spodziewaną miesiączką? TAK / NIE
7. Jeżeli zdecydowała się Pani na posiadanie dzieci, czy były/są problemy z zajściem
w ciążę (> 6 miesięcy) TAK / NIE / NIE DOTYCZY lub z utrzymaniem ciąży?
TAK / NIE / NIE DOTYCZY
Czy po porodzie były problemy z utrzymaniem karmienia piersią
(zbyt mało pokarmu)? TAK / NIE / NIE DOTYCZY
8. Czy podejmuje Pani w tygodniu wysiłek fizyczny? TAK / NIE / SPORADYCZNIE
Ile dni w tygodniu?.....Jak długi?.....
9. Czy Pani pali? TAK / NIE Ile?
Czy nadużywa Pani alkoholu? TAK / NIE
10. Czy Pani w nocy chrapie? TAK / NIE / NIE WIEM
Czy źle Pani w nocy śpi i w dzień jest chronicznie senna / zasypia bez kontroli? TAK / NIE
11. Czy na coś Pani przewlekłe choruje? TAK / NIE Na co?
12. Czy przyjmuje Pani na stałe jakieś leki? TAK / NIE Jakie? Od kiedy?.....