

Agnieszka Podfigurna-Stopa

**Ocena stężeń kortykoliberyny, kisspeptyny
oraz inhibiny B i inhibiny całkowitej w surowicy krwi
u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki
i jadłowstrętem psychicznym**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Błażej Męczekalski

**Katedra i Klinika Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

Kierownik Katedry i Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Błażej Męczekalski

Poznań 2011

*Szanownemu Panu Profesorowi Błażejowi Męczekalskiemu,
Kierownikowi Katedry i Kliniki Endokrynologii
Ginekologicznej, składam serdeczne podziękowania
za nieocenioną pomoc i wsparcie, naukowe inspiracje
oraz nieustanną motywację do dalszej pracy*

Praca przygotowana została w Katedrze i Klinice Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz w Klinice Położnictwa i Ginekologii Uniwersytetu w Sienie we Włoszech w ramach Grantu Promotorskiego KBN

SPIS TREŚCI

I. WYKAZ UŻYWANYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI	6
II. SPIS TABEL I RYCIN	9
III. WSTĘP.....	11
1. Oś podwzgórze – przysadka – jajnik.....	11
2. Regulacja wydzielania gonadoliberyny	15
a) Kortykoliberyna	16
b) Kisspeptyna.....	18
c) Leptyna.....	19
d) Neuropeptyd Y.....	19
e) Insulinopodobny czynnik wzrostu–I.....	20
f) Serotonina	21
g) β -endorfiny.....	21
4. Podwzgórzowy brak miesiączki.....	21
a) Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki	22
b) Neuroendokryne podłoże podwzgórzowego braku miesiączki.....	24
5. Jadłowstręt psychiczny (anorexia nervosa).....	25
6. Wpływ podwzgórzowego braku miesiączki i jadłowstrętu psychicznego na funkcje rozrodcze i metaboliczne.....	29
7. Rola peptydów jajnikowych i steroidów płciowych w rozrodzie i zaburzeniach hormonalnych.....	33
a) Inhibina B.....	34
b) Inhibina A	36
c) Inhibina całkowita.....	37
d) Hormon antymülerowski (AMH).....	38
e) Estrogeny	40

8. Podłoże genetyczne czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki i jadłowstrętu psychicznego	41
IV. CEL PRACY.....	44
V. MATERIAŁ	46
VI. METODYKA.....	48
VII. ANALIZA STATYSTYCZNA	51
VIII. WYNIKI BADAŃ	52
IX. DYSKUSJA	85
X. WNIOSKI	96
XI. STRESZCZENIE.....	97
XII. SUMMARY	100
XIII. PIŚMIENNICTWO.....	103

I. WYKAZ UŻYWANYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI

1,25(OH)₂D₃ (1,25-dihydroxycholecalciferol) – dihydroksycholekalcyferol, kalcytriol

ACTH (adrenocorticotropic hormone, adrenocorticotropic, corticotropin) – hormon adrenokortykotropowy, kortykotropina

AMH, MIS, MIF, MIH (Anti-Müllerian Hormone, Müllerian-inhibiting substance, Müllerian inhibiting factor, Müllerian-inhibiting hormone) - hormon antymüllerowski, czynnik hamujący Müllera

AN (anorexia nervosa) – jadłowstręt psychiczny

apoA1 (apolipoprotein A1) – apolipoproteina A1

apoB (apolipoprotein B) – apolipoproteina B

BMI (body mass index) – wskaźnik masy ciała

BMP-6 (bone morphogenetic protein - 6) - białko morfogenetyczne kości - 6

CRH (corticotropin-releasing hormone) – hormon uwalniający kortykotropinę, kortykoliberyna

CRH-BP (corticotropin-releasing hormone-binding protein) – białko wiążące CRH

CRH R1 (corticotropin-releasing hormone receptor 1) – receptor kortykoliberyny 1

CRH R2 (corticotropin-releasing hormone receptor 2) – receptor kortykoliberyny 2

DSM –IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) - klasyfikacja zaburzeń psychicznych Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego

E₂ (estradiol-17β) – 17 β-estradiol

EGF (epidermal growth factor) – nabłonkowy czynnik wzrostu

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) - test immunoenzymatyczny, test immunoenzymosorbcyjny

FHA (functional hypothalamic amenorrhea) - czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki

FSH (follicle-stimulating hormone) – folikulotropina, hormon folikulotropowy

g - gram

GH-RH (growth-hormone-releasing hormone) – hormon uwalniający hormon wzrostu, somatoliberyna

GnRH (gonadotropin-releasing hormone) – hormon uwalniający gonadotropiny, podwzgórzowy hormon uwalniający gonadotropiny, gonadoliberyna

GPR54 (G-protein-coupled receptor 54) - receptor 54 związany z białkiem G

HA (hypothalamic amenorrhea) – podwzgórzowy brak miesiączki

HDL (high density lipoprotein) – wysokiej gęstości lipoproteina

ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) – Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych

IGF-I (insulin-like growth factor-I) - insulinopodobny czynnik wzrostu-I

IL-6 (interleukin-6) - interleukina 6

K – grupa kontrolna

LDL (low density lipoprotein) – niskiej gęstości lipoproteina

LH (luteinizing hormone) – lutropina, hormon luteinizujący

M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) - czynnik stymulujący kolonie makrofagów

Me (mediana) – wartość środkowa

Min-Max – wartość minimalna-wartość maksymalna

n – liczebność grupy

NPY (neuropeptide Y) – neuropeptyd Y

NS (non-significant) – nieistotne statystycznie

SHBG (sex hormone binding globulin) - globulina wiążącą steroidy płciowe

SD (standard deviation) - odchylenie standardowe

p (p-value, statistical significance) – poziom istotności statystycznej

POF (praemature ovarian failure) – przedwczesne wygasanie czynności jajników

R (Pearson's correlation) – współczynnik korelacji liniowej Pearsona

r. ż. – rok życia

RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) - ligand receptora aktywatora jądrowego czynnika kappaB

reverse-T₃ (reverse triiodothyronine) – odwrotna trójiodotyronina

T₃ (triiodothyronine) – trójiodotyronina

T₄ (thyroxine) – tyroksyna, czteroiodotyronina

TGF-β (transforming growth factor-beta) - transformujący czynnik wzrostu typu β

TNF-α (tumor necrosis factor-alpha)- czynnik nekrotyzujący guza α

TRH (thyrotropin-releasing hormone) – tyreoliberyna

TSH (thyroid-stimulating hormone) – tyreotropina

II. SPIS TABEL I RYCIN

Tabela I. Charakterystyka kliniczna kobiet w grupie badanej (I - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, II - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (III). 53

Tabela II. Wartości poszczególnych parametrów hormonalnych (CRH, kisspeptyna, inhibina B, inhibina całkowita, FSH, LH, estradiol, prolaktyna, testosteron) w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (I - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, II - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (III). 57

Rycina 1. Średnie stężenia kortykoliberyny (CRH) w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 62

Rycina 2. Średnie stężenia kisspeptyny w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 63

Rycina 3. Średnie stężenia inhibiny B w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 64

Rycina 4. Średnie stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 65

Rycina 5. Średnie stężenia FSH w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 66

Rycina 6. Średnie stężenia LH w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 67

Rycina 7. Średnie stężenia estradiolu w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K). 68

Rycina 8. Korelacja między wartościami stężeń kisspeptyny i inhibiny B w surowicy krwi u kobiet z grupy badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupy kontrolnej. 69

Rycina 9. Korelacja między wartościami stężeń CRH w surowicy krwi i wartościami BMI u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej. 70

Rycina 10. Korelacja między wartościami stężeń CRH i FSH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.	71
Rycina 11. Korelacja między wartościami stężeń CRH i LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.	72
Rycina 12. Korelacja między wartościami stężeń CRH i estradiolu (E ₂) w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.	73
Rycina 13. Korelacja między wartościami stężeń CRH i prolaktyny w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.	74
Rycina 14. Korelacja między wartościami stężeń CRH i inhibiny B w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.	75
Rycina 15. Korelacja między wartościami stężeń CRH i inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.	76
Rycina 16. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny całkowitej i LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.	77
Rycina 17. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny całkowitej i estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.	78
Rycina 18. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.	79
Rycina 19. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.	80
Rycina 20. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.	81
Rycina 21. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.	82
Rycina 22. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny całkowitej i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.	83

III. WSTĘP

1. Oś podwzgórze – przysadka – jajnik

Funkcjonowanie układu rozrodczego podlega złożonej regulacji nerwowo-hormonalnej. Cykl miesięczkowy kobiety kontrolowany jest przez oś podwzgórze – przysadka - jajnik. Najważniejszym ogniwem działającym w obrębie tej osi jest pulsacyjne wydzielanie gonadoliberyny (GnRH) z podwzgórza, które stymuluje pulsacyjne wydzielanie hormonu folikulotropowego (FSH) i hormonu luteinizującego (LH) z przysadki mózgowej. Substancjami regulującymi to wydzielanie są liczne peptydowe substancje wzrostowe, sterydy płciowe, peptydy opioidowe oraz szlaki serotoninergetyczne. Pomiędzy poszczególnymi częściami składowymi wyżej wymienionych układów funkcjonują pętle sprzężeń zwrotnych (długa, krótka i ultrakrótka), w których zasadniczą rolę odgrywiają hormony podwzgórza, przysadki i gonad¹.

Jedną z części składowych osi podwzgórze – przysadka – jajnik jest podwzgórze. W języku łacińskim „podwzgórze” oznacza „*hypothalamus*”, a w języku greckim „*υπό*” = "pod" oraz „*θάλαμος*” = "komora". Podwzgórze powstaje z blaszek podstawnych międzymózgowia, leżących poniżej bruzdy podwzgórzowej. W bocznych ścianach podwzgórza różnicuje się szereg jąder nadrzędnych dla niższych ośrodków układu wegetatywnego².

Podwzgórze usytuowane jest między częścią kresomózgowia oraz brzuszną częścią śródmózgowia i jest ściśle połączone z przysadką mózgową. Stanowi ono podkorowy ośrodek międzymózgowia, należący do autonomicznego układu nerwowego. Masa podwzgórza człowieka wynosi około 4,5 grama, stanowiąc około 1/300 masy całego ludzkiego mózgu. Podwzgórze zbudowane jest głównie z istoty szarej, gdzie odbywa się integracja czynności zarówno wegetatywnych, jak i somatycznych. Część przednią podwzgórza stanowi ośrodek przywspółczulny. Drażnienie tej okolicy powoduje zwolnienie czynności serca, skurcz pęcherza moczowego i wzmoczenie perystaltyki jelit. Stymulując część środkową oraz tylną można wywołać reakcje charakterystyczne dla czynności układu współczulnego, takie jak przyspieszenie czynności serca, wzrost ciśnienia tętniczego krwi czy rozszerzenie źrenic³.

W podwzgórzu rozróżnia się trzy grupy jąder: przednią, środkową i tylną.

W przedniej części podwzgórza istnieją wyraźnie odgraniczone dwa jądra: nadwzrokowe i przykomorowe. Jądra części przedniej podwzgórza odgrywają ważną rolę w regulowaniu gospodarki wodnej i utrzymywaniu prawidłowej ciepłoty ciała. Zniszczenie obustronne jądra nadwzrokowego i przykomorowego, podobnie jak przecięcie dróg łączących je z płatem tylnym przysadki, powoduje moczówkę prostą. Obustronne uszkodzenie przedniej części podwzgórza w polu przedwzrokowym wywołuje zniszczenie ośrodków chroniących ustroj przed przegrzaniem. Ciepłota ciała może osiągnąć wówczas znaczną wysokość, co niejednokrotnie kończy się śmiercią⁴.

Grupę środkową jąder podwzgórza tworzą jądra leżące w obrębie guza popielatego. Wyróżniamy: jądro lejka, brzuszno-przyśrodkowe, grzbietowo-przyśrodkowe, guzowo-suteczkowe oraz jądro boczne guza. Zniszczenie guza popielatego wywołuje opisane po raz pierwszy w 1896 roku zwyrodnienie tłuszczowo-płciowe (*dystrophia adiposo-genitalis*), znane pod nazwą choroby Babińskiego-Froehlicha⁴. Jest to zespół choroby, w którym stwierdza się charakterystyczne otłuszczenie oraz zaburzenia rozwoju i czynności narządów płciowych (hipogenitalizm). Otłuszczenie przy uszkodzeniu podwzgórza spowodowane jest nadmiernym łaknieniem wywołanym przez obustronne zniszczenie jądra brzuszno-przyśrodkowego. Zaburzenia czynności gruczołów płciowych spowodowane ogniskiem chorobowym w podwzgórzu mogą być różne, co zależy przede wszystkim od wieku i płci pacjenta⁴.

Grupa tylna jąder podwzgórza leży w ciele suteczkowatym. Wyróżniamy: jądro suteczkowe przyśrodkowe, suteczkowe boczne, jądro wtrącone ciała suteczkowatego, przedsuteczkowe oraz pola tylnego. Znaczenie jąder ciała suteczkowatego nie jest do końca wyjaśnione. Przypuszcza się, że wpływają one na czynność gruczołów płciowych. Zniszczenie tej okolicy u zwierząt znosi popęd płciowy w okresie rui. Zwyrodnienie komórek nerwowych w obu jądrach suteczkowych stwierdzono u ludzi z zespołem Korsakowa, którego zasadniczą cechą jest upośledzenie zapamiętywania. Można by więc przypuszczać, że ciała suteczkowate odgrywają rolę w prawidłowym funkcjonowaniu niektórych czynności psychicznych⁴.

Podwzgórze wraz z pasmem wzrokowym i skrzyżowaniem wzrokowym odżywiane jest przez naczynia tworzące koło tętnicze mózgu, a mianowicie tętnicę łączącą

przednią, tętnicę przednią mózgu, tętnicę szyjną wewnętrzną, tętnicę łączącą tylną oraz w nieznacznym stopniu przez tętnicę tylną mózgu⁵.

Neurony podwzgórza wytwarzają około 20 ważnych związków o właściwościach hormonów lub neurotransmiterów. Neurotransmitery to między innymi noradrenalina, serotonina, acetylocholina, glutaminian i kwas gammaaminomasłowy. Wśród neuropeptydów wyróżniamy: wazopresynę, oksytocynę, kortykoliberynę, tyreoliberynę, neuropeptyd Y oraz leptynę¹.

Podwzgórze zawiera ważne ośrodki kierujące czynnością autonomicznego układu nerwowego, gospodarką wodną organizmu (regulacją ilości wody i odczuwaniem pragnienia), termoregulacją, czynnością gruczołów wewnątrzwydzielniczych, pobieraniem pokarmu (głód i sytość), przemianą tłuszczów, węglowodanów, snem i czuwaniem, czynnościami seksualnymi (cyklami układu rozrodczego, popędem seksualnym) oraz reakcjami emocjonalnymi. Czynność podwzgórza pozostaje w ścisłym związku z przysadką mózgową¹.

Na podstawie doświadczeń na szczurach stwierdzono, że podwzgórze jest ośrodkiem przyjemności. Przez podwzgórze do kory nerwowej przepływają bodźce czuciowe, dlatego podwzgórze nazywane jest podkorowym ośrodkiem czucia¹.

Drugą częścią składową osi podwzgórze-przysadka-jajnik jest przysadka (*hypophysis cerebri*). Jest ona gruczołem wewnątrzwydzielniczym, wielkości małej fasoli, ważącym około 0,7 grama. Zlokalizowana jest w okolicy kostnego zagłębienia nazywanego siodłem tureckim (*sella turcica*). Przysadka dzieli się na trzy części: przednią (*adenohypophysis*), środkową i tylną. Część przednia i środkowa powstały z nabłonka wyścielającego podniebienie wtórne, natomiast część tylna powstała z podwzgórza i funkcjonalnie jest jego częścią. Aktywność przedniego i tylnego płata przysadki mózgowej modulowana jest przez podwzgórze dwiema odmiennymi drogami. Neurohormony syntetyzowane przez podwzgórze docierają bezpośrednio do przedniego płata przysadki mózgowej poprzez układ krążenia wrotnego. Do tej pory, nie stwierdzono bezpośrednich połączeń neurohormonalnych pomiędzy podwzgórzem i przednim płatem przysadki mózgowej. W odróżnieniu od płata przedniego, płat tylny przysadki mózgowej zawiera aksony pochodzące z komórek nerwowych umiejscowionych w pod-

wzgórzu. Aksony te są miejscem gromadzenia się dwóch hormonów peptydowych wytwarzanych w podwzgórzu: wazopresyny i oksytocyny.

Płat środkowy znajduje się pomiędzy płatem przednim i tylnym przysadki mózgowej. Występuje u niektórych gatunków zwierząt i w okresie rozwoju płodowego człowieka ².

Trzecią składową osi podwzgórze-przysadka-jajnik są jajniki. To żeńskie gonaady leżące wewnątrztrzewnowo w częściach bocznych jamy miednicy. Mają kształt migdałowaty, a ich wielkość jest bardzo zmienna w zależności od wieku. Przeciętna waga jajnika u kobiety dojrzałej wynosi od 6 do 8 gramów. Do jajnika przyczepione są trzy pasma łącznotkankowe: więzadło właściwe jajnika, krezka jajnika oraz więzadło wieszadłowe jajnika. Pomimo swych licznych połączeń więzadłowych, jajnik jest narządem bardzo ruchomym. Jajnik jest sprężysto zawieszony na swych więzadłach i ustawienie jego jest czynnie regulowane przez więzadło właściwe oraz więzadło wieszadłowe. W trakcie zmian chorobowych więzadła te mogą ulec zeszywnieniu. Położenie i ustawienie jajnika zależne jest więc od szeregu czynników takich jak napięcie aparatu więzadłowego, ustawienie więzadła szerokiego macicy, jak i samej macicy, stanu pęcherza moczowego i odbytnicy, pętli jelitowych zawartych w zagłębieniu odbytniczno-macicznym czy napięcia mięśni dna miednicy ⁶.

W jajniku kobiety dojrzałej płciowo odróżniamy bardziej zagęszczoną korę oraz luźno zbudowany i obficie unaczyniony rdzeń. Kora otoczona jest nabłonkiem płciowym, odpowiednikiem nabłonka otrzewnej, pod którym leży cienka błona biaława. W łącznotkankowym podścielisku jajnika w obrębie kory znajdują się komórki jajnikowe w różnych stadiach dojrzewania ⁶.

Czynność hormonalna całej osi podwzgórze-przysadka-jajnik jest ściśle skoordynowana. Inicjatorem zmian cyklicznych jest podwzgórze, generując pulsy gonadoliberyny (GnRH). Komórkami docelowymi dla GnRH są komórki gonadotropowe przysadki, które z kolei wydzielają do krwi gonadotropiny działające na jajnik. Po między gonadotropinami i steroidami jajnika wytwarzają się dodatnie i ujemne sprzężenia zwrotne, które stanowią istotny element regulujący czynność całej osi podwzgórze-przysadka-jajnik ⁷.

Regulacja wydzielania hormonów przez przysadkę i gonaady jest realizowana na drodze trzech niezależnych mechanizmów ujemnego sprzężenia zwrotnego: pętli ultra-

krótkiej, polegającej na hamowaniu produkcji hormonu przez zwiększenie jego wewnątrzkomórkowego stężenia, pętli krótkiej, kontrolującej uwalnianie gonadotropin przysadkowych przez sprzężenie zwrotne z gonadoliberyną oraz pętli długiej, obejmującej ujemne sprzężenie zwrotne między steroidami płciowymi a ośrodkiem podwzgórza i przysadką¹⁷.

Dodatnie sprzężenie zwrotne polega na tym, że w fazie przedowulacyjnej dochodzi do wydzielania estradiolu przez pęcherzyk dominujący jajnika, pobudzając uwalnianie GnRH w podwzgórzu oraz LH w przysadce mózgowej, co w efekcie doprowadza do owulacji¹⁷.

2. Regulacja wydzielania gonadoliberyny

Gonadoliberyna (GnRH) jest dekapeptydem kontrolującym wydzielanie gonadotropin przez przysadkę. Gonadoliberyna wydzielana jest przez neurony GnRH. U człowieka zlokalizowane są one w jądrze łukowatym podwzgórza i okolicy przedwzrostkowej. Aksony neuronów GnRH wiodą do wyniosłości pośrodkowej i innych narządów okołokomorowych, gdzie mają kontakt z naczyniami układu wrotnego przysadki i płynem mózgowo-rdzeniowym⁸.

GnRH wydzielana jest w sposób pulsacyjny z określoną częstotliwością i amplitudą. Generator pulsów GnRH utworzony jest przez około 3000 neuronów i zlokalizowany jest w jądrze łukowatym w okolicy przypodstawno-przyśrodkowej podwzgórza. Regulacja jego czynności jest wewnętrzną cechą, tworzących go komórek nerwowych. Wiadomo, że podlega ona również modulacji przez neuroaktywne substancje mózgowe i hormony jajnika⁷. Częstotliwość pulsów GnRH zmienia się podczas trwania cyklu miesięczkowego. W pierwszej fazie cyklu miesięczkowego pulsy GnRH występują co 60-90 minut. Natomiast w fazie lutealnej częstotliwość pulsów jest mniejsza i wynosi 120-360 minut¹. Niska częstotliwość pulsów GnRH stymuluje w głównej mierze wydzielanie FSH. Zwiększona częstotliwość pulsów GnRH odpowiada za wydzielanie LH w okresie okołowulacyjnym. W fazie przedmiesiączkowej częstotliwość pulsów

GnRH ulega obniżeniu, a pod koniec tej fazy atrezja ciała żółtego inicjuje kolejny cykl wydzielania GnRH⁷.

Odkryto także drugą formę GnRH – GnRH-II, a także receptory obu form GnRH. Receptor dla GnRH-I należy do receptorów związanych z białkiem G⁹.

W odróżnieniu od receptora dla GnRH-II, ludzki receptor dla GnRH-I nie ma wewnątrzcytoplazmatycznej domeny C-końcowej¹⁰. Przypuszcza się, że ta modyfikacja służy ochronie przed szybką desensybilizacją i internalizacją receptora podczas owulacji.

W odróżnieniu od receptora dla GnRH-I, zlokalizowanego w tkance mózgowej, ekspresja receptora dla GnRH-II jest największa w nerce, szpiku kostnym i gruczole krokowym, natomiast w mózgu jego ilość jest mniejsza⁹. Istnieje także trzecia izoforma gonadoliberyny (GnRH-III), jednak nie jest do końca poznana oraz nie stwierdzono istnienia odrębnego jej receptora^{10 11}.

Prawidłowe pulsacyjne wydzielanie GnRH zapewne prawidłowe wydzielanie FSH i LH w przysadce mózgowej, co z kolei zapewnia prawidłową steroidogenezę jajnikową¹.

W regulacji wydzielania GnRH w podwzgórzu bierze udział wiele neuropeptydów, neurotransmiterów i neurosterydów, takich jak: kortykoliberyna, kisspeptyna, leptyna, neuropeptyd Y, insulinopodobny czynnik wzrostu-I (IGF-I), serotonina, β -endorfiny.

a) Kortykoliberyna

Kortykoliberyna (CRH) to polipeptyd zbudowany z 41 aminokwasów odkryty u owcy w 1981 roku przez Vale i wsp.¹². Jest neurotransmiterem, wydzielanym głównie ośrodkowo, przez jądro przykomorowe podwzgórza oraz przez tkanki obwodowe takie jak jelita, gonady, endometrium, łożysko i błony płodowe¹².

Białko wiążące CRH, CRH-BP (corticotropin releasing hormone-binding protein) jest wytwarzane w obrębie wątroby, mózgu i łożyska. Poprzez wiązanie z CRH moduluje ono aktywność biologiczną tego hormonu¹³.

CRH działa przez receptory CRH, które należą do grupy receptorów sprzężonych z białkiem G. Do tej pory zidentyfikowano dwa główne typy receptorów dla CRH: CRH R1 oraz CRH R2. Ze względu na odmienne rozmieszczenie receptorów CRH w tkankach ośrodkowego układu nerwowego oraz różne właściwości farmakologiczne, różne są ich zadania fizjologiczne, które jak dotąd poznane zostały tylko częściowo ¹⁴.

Główną rolą CRH jest oddziaływanie na receptory przysadki, powodując wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH). Następnie, ACTH jest transportowany we krwi do kory gruczołów nadnerczowych, stymulując biosyntezę kortykosteroidów z cholesterolu ¹⁵.

Działanie CRH związane jest również z odpowiedzią organizmu na stres. Odpowiedź CRH stanowi główny mediator stresu w organizmie. Działający czynnik stresowy powoduje zwiększenie uwalniania CRH z okolicy wyniosłości pośrodkowej podwzgórze, która za pośrednictwem krążenia wrotnego trafia do przysadki ¹⁶.

Podanie CRH do ośrodkowego układu nerwowego wywołuje reakcje związane ze stresem, stymulując współczulny układ nerwowy (zwiększenie wydzielania adrenaliny, noradrenaliny, glukozy, przyspieszenie czynności serca, podwyższenie ciśnienia tętniczego krwi) ^{17 18}. Ponadto aktywuje zachowania związane z lękiem oraz hamuje aktywność lokomotoryczną, nasilając zachowania perseweracyjne, polegające na bezcelowym powtarzaniu czynności ruchowych (stereotypy ruchowe, sztywność działania) ^{19 20}.

W zakresie regulacji osi gonadalnej, działanie CRH polega na bezpośrednim hamowaniu GnRH. Ponadto, CRH może również w sposób pośredni poprzez wzrost wydzielania β -endorfin, hamować sekrecję GnRH ²¹.

Ponadto, CRH odgrywa istotną rolę w ciąży, zwłaszcza w aspekcie inicjacji porodu oraz patofizjologii porodu przedwczesnego ²². U kobiet niebędących w ciąży stężenie CRH w surowicy krwi jest bardzo niskie, na granicy wartości oznaczalnych. Natomiast u kobiet w ciąży stężenie CRH w surowicy krwi zwiększa się znacząco wraz z przebiegiem ciąży ²³.

CRH pełni również funkcję w procesach zapalnych, reakcjach autoimmunologicznych oraz wpływa na układ sercowo-naczyniowy. Wpływ ten polega działaniu inotropowym dodatnim, rozszerzając między innymi naczynia wieńcowe ^{24 25}.

CRH jest jedną z wielu substancji wpływających na regulację łaknienia. Podanie CRH do ośrodkowego układu nerwowego hamuje łaknienie ^{26 27}. Sytuacje stresowe, prowadzące do wzrostu stężenia CRH w surowicy krwi, prowadzą w efekcie do spadku łaknienia ²⁸.

Układ podwzgórze-przysadka-nadnercza podlega ciągłej regulacji. Podstawowym zadaniem osi podwzgórze-przysadka-nadnercza jest utrzymanie homeostazy zarówno w warunkach podstawowych, jak i po działaniu czynnika stresowego ¹⁶.

b) Kisspeptyna

Kisspeptynę odkryto w 2001 roku jako produkt genu KISS. Jednak dopiero w 2003 roku powiązано jej działanie z regulacją układu rozrodczego ^{29 30}. Kisspeptyna to 54-aminokwasowy peptyd, zwany również metastatyną. Jej działanie odbywa się przez receptory związane z białkiem G (GPR54) obecne na neuronach GnRH. Receptor GPR54 ma budowę receptora związanego z białkiem G. Ten nowo odkryty neuromodulator uaktywnia oś podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikową. Kisspeptyna oddziałuje na generator pulsów GnRH, stymulując produkcję GnRH i przez układ wrotny przysadki dociera do komórek gonadotropowych, pobudzając wydzielanie gonadotropin ³¹.

Kisspeptyna działa zarówno podczas dojrzewania płciowego, jak również w trakcie regulacji cyklu miesięczkowego. Jej działanie stymulujące odnosi się nie tylko do wydzielania GnRH, ale również bezpośrednio do gonadotropin, szczególnie w fazie przedowulacyjnej ³¹.

W ostatnich latach odkryto, że ośrodkiem nadrzędnym w stosunku do generatora pulsów GnRH są skupiska kissneuronów, wydzielające kisspeptynę. Tworzą one sieć neuroendokrynną zaangażowaną w regulację na poziomie osi podwzgórze-przysadka-gonady. Uważa się, iż oddziaływanie hormonów płciowych na zasadzie sprzężenia zwrotnego jest skierowane bezpośrednio na kissneurony. Skupiska kissneuronów znajdują się w 2 strukturach mózgu: w jądrze łukowatym i jądrze okołokomorowym oraz

rozproszone są w przedniej części przysadki mózgowej³². Mutacja receptora GPR54 jest odpowiedzialna za hipogonadyzm hipogonadotropowy.

W badaniach doświadczalnych wykazano wpływ estradiolu w mechanizmie dodatniego sprzężenia zwrotnego w powstawaniu przedowulacyjnego piku LH, który realizuje się poprzez przekaznictwo kisspeptynowe^{33 34}.

Kisspeptyna zwana również metastatyną hamuje migrację komórek nowotworowych, utrudniając metastazę guza. Stymulacja GPR-54 zapoczątkowuje apoptozę komórek i może mieć duże znaczenie w procesach nowotworzenia³⁵.

Ponadto kisspeptyna obecna jest również w łożysku. Może pobudzać migrację i wzrost trofoblastu w pierwszym trymestrze ciąży. Kisspeptyna pełni rolę ochronną w okresie ciąży, w czasie której stwierdzono podwyższone stężenia tego hormonu. Obserwuje się też zwiększoną sekrecję oksytocyny pod wpływem kisspeptyny³⁶.

c) Leptyna

Leptyna jest białkiem zbudowanym z 146 aminokwasów o masie cząsteczkowej 16 kDa, wydzielanym głównie przez adipocyty, odgrywając rolę w regulacji pobierania pokarmu i gospodarki energetycznej organizmu. Leptyna jest produktem genu *Ob* zlokalizowanego na chromosomie 7³⁷.

Leptyna wywiera wpływ na oś gonadalną poprzez hamowanie wydzielania neuropeptydu Y (NPY). Aktywuje w ten sposób pośrednio oś podwzgórze-przysadka-jajnik³⁸. Możliwe jest również bezpośrednie oddziaływanie leptyny na syntezę lub wydzielanie GnRH lub gonadotropin, a nawet poprzez bezpośrednie oddziaływanie na jajniki³⁹.

U pacjentów z jadłowstrętem psychicznym stwierdza się znacznie obniżone stężenia leptyny w surowicy krwi. Także u pacjentów, u których w wywiadzie rozpoznany był jadłowstręt psychiczny, nawet po 10-letnim leczeniu, oznaczane stężenia leptyny są obniżone³⁸.

d) Neuropeptyd Y

W ostatnich latach bardzo duża ilość peptydów została wyizolowana z podwzgórza. Wśród nich możemy wyróżnić NPY uwalniany przez jądro przykomorowe

podwzgórza. NPY należy do rodziny polipeptydów trzustkowych, występuje obficie w centralnym układzie nerwowym. Stymulacja NPY prowadzi do aktywacji osi podwzgórze - przysadka - kora nadnerczy stymulując pulsacyjne wydzielanie GnRH. NPY jest substancją odpowiedzialną również za pobudzanie apetytu. Uczestniczy w regulacji rytmu dobowego, odpowiedzi na stres, regulacji funkcji seksualnych i zachowań żywieniowych^{40 41}.

Pacjentki z podwzgórzowym brakiem miesiączki charakteryzują się obniżonym stężeniem NPY w surowicy krwi w porównaniu z kobietami zdrowymi⁴². Stężenie to zaczyna normalizować się dopiero po przyroście masy ciała pacjentek i często dopiero wtedy, gdy wracają samoistne cykle miesiączkowe⁴¹.

Neuropeptyd Y występujący w mózgu, odpowiedzialny jest za bardzo wiele fizjologicznych procesów w ludzkim organizmie, kontrolując między innymi metabolizm, ciśnienie tętnicze krwi oraz całodobowy rytm. Działanie jego uwarunkowane jest przez odpowiednie receptory, a zaburzenie w ich funkcjonowaniu może powodować wystąpienie nadciśnienia tętniczego krwi, zaburzeń odżywiania, a także osobowości⁴².

e) Insulinopodobny czynnik wzrostu-I

Insulinopodobny czynnik wzrostu-I (insulin-like growth factor-I – IGF-1), jest hormonem polipeptydowym zbudowanym z 70 aminokwasów. Głównym źródłem krążącego IGF-I jest wątroba. Uczestniczy w komórkowych procesach wzrostowych, wywołując efekty anaboliczne. Podstawową rolą IGF-I jest pobudzanie komórek i tkanek do wzrostu oraz podziału. Jest on odpowiedzialny za anaboliczne działanie hormonu wzrostu. Może on działać endokrynnie, autokrynnie i parakrynnie⁴³. Najważniejszym regulatorem transkrypcji IGF-I jest hormon wzrostu (growth hormone – GH), po podaniu którego obserwuje się zwiększone wytwarzanie wszystkich rodzajów RNA dla IGF-I⁴⁴. Jednakże czynniki hormonalne, wiek, stan odżywienia, a także specyficzny rodzaj tkanki modulują ekspresję IGF-I⁴⁵.

IGF-I istotnie wpływa na układ rozrodczy, stymulując uwalnianie GnRH z podwzgórza⁴⁶. Podanie IGF-I stymuluje uwalnianie GnRH z wyniosłości pośród-

kowej i pobudza wrażliwość gonadotropów na stymulację GnRH, przyspieszając początek dojrzewania u szczurów^{46 47}.

IGF-I uważany jest również za czynnik ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, a jego rolę kojarzono z przerostem mięśniówki gładkiej naczyń, rozrostem blaszek miażdżycowych i rozwojem angiopatii cukrzycowej^{48 49 50 51}. Również w chorobach nowotworowych IGF-I moduluje wzrost niektórych guzów głównie na drodze auto- i parakrynej, co wykazano m.in. w raku płuca^{52 53 54}.

f) Serotonina

Serotonina jest jednym z najważniejszych neuroprzekaźników w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i układu pokarmowego. Układ serotonergiczny związany jest z czynnością kory mózgowej, regulując wiele podstawowych procesów życiowych, takich jak sen, percepcja bólu, procesy termoregulacji, ciśnienie krwi, głód i sytość, zachowania seksualne i wydzielanie hormonów. W zakresie wpływu na układ rozrodczy, serotonina pobudza wydzielanie GnRH, a najprawdopodobniej również syntezę i wydzielanie gonadotropin⁵⁵.

g) β -endorfiny

β -endorfiny są peptydami opioidowym, biorącymi udział w regulacji prawidłowego cyklu miesięczkowego. Podstawowy mechanizm działania β -endorfin w obrębie osi podwzgórze-przysadka-jajnik opiera się na zaburzeniu pulsacyjnego wydzielania GnRH przez neurony noradrenergiczne. β -endorfiny wpływają inhibicyjnie na uwalnianie GnRH oraz na sekrecję gonadotropin⁵⁶.

4. Podwzgórzowy brak miesiączki

Podwzgórzowy brak miesiączki związany jest z zaburzeniem pulsacyjnego wydzielania gonadoliberyny. Zaburzenie to może być odwracalne lub nieodwracalne (w zależności od typu podwzgórzowego braku miesiączki).

Można wyróżnić trzy podstawowe przyczyny podwzgórzowego braku miesiączki:

- czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki (functional hypothalamic amenorrhea - FHA) – dotyczy zdecydowanej części przypadków,
- podwzgórzowy brak miesiączki na tle organicznym, spowodowany obecnością guzów w obrębie podwzgórza, infekcji czy urazów. Wśród zmian organicznych w obrębie podwzgórza wyróżnić można między innymi: czaszkogardlaka (craniopharyngioma), glejaka (glioma), oponiaka (meningioma), rozrodczaka (germinoma), guzy zatoki endodermalnej (endodermal sinus tumor) czy potworniaka (teratoma),
- podwzgórzowy brak miesiączki na podłożu genetycznym (zespół Kallmanna, izolowany niedobór GnRH).

Spektrum zaburzeń wydzielania GnRH i LH w podwzgórzowym braku miesiączki jest bardzo szerokie i może obejmować obniżenie częstotliwości pulsacyjnego wydzielania LH, brak pulsacyjnego wydzielania LH, prawidłowo kształtujące się wydzielanie LH oraz wzrost częstotliwości pulsacyjnego wydzielania LH⁵⁷.

Precyzyjne mechanizmy leżące u neurohormonalnego podłoża podwzgórzowego braku miesiączki są bardzo złożone i nie do końca poznane. Wiele neuropeptydów, neurotransmiterów i neurosterydów odgrywa istotną rolę w fizjologicznej regulacji wydzielania GnRH. Istnieją dowody naukowe, że niektóre z tych substancji mogą być włączone w patofizjologię podwzgórzowego braku miesiączki. Szczególnie odnosi się to do kortykoliberyny (CRH), neuropeptydu Y (NPY), leptyny, serotoniny oraz β -endorfin.

a) Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki

Funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-jajnik opiera się przede wszystkim na prawidłowych relacjach pomiędzy GnRH, gonadotropinami i hormonami wydzielanymi przez jajnik. Zaburzenia w obrębie tej osi mogą prowadzić do wystąpienia czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki⁵⁷.

Zaburzenia czynnościowe pochodzenia podwzgórzowego stanowią najczęstszą przyczynę wtórnego braku miesiączki⁵⁸.

Uważa się, że podwzgórzowy brak miesiączki w 15-35% warunkuje przyczyny wtórnego braku miesiączki. W mniejszym stopniu, bo w około 10% stanowi przyczynę pierwotnego braku miesiączki⁵⁹.

Czynnościowe zaburzenia podwzgórza polegają na odwracalnym zaburzeniu częstotliwości i amplitudy wydzielania GnRH w jądrze łukowatym podwzgórza⁵⁷.

U pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki obserwuje się znacznie obniżone stężenie LH w porównaniu ze stężeniem FSH oraz niskie stężenia estradiolu w surowicy krwi⁵⁷.

Jedną z głównych przyczyn czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki jest ujemny bilans energetyczny, wynikający ze znacznej utraty masy ciała⁵⁹.

Zaburzenia osi podwzgórze-przysadka-jajnik mogą prowadzić do pierwotnego (jeśli niedożywienie wystąpiło przed okresem pokwitania) lub wtórnego (gdy niedożywienie wystąpiło po okresie pokwitania) braku miesiączki⁶⁰. Czynność układu rozrodczego jest ściśle powiązana ze stanem odżywienia. Dlatego do inicjacji dojrzewania, a następnie podtrzymania owulacyjnych cykli miesiączkowych niezbędna jest określona, minimalna ilość tkanki tłuszczowej w organizmie. W warunkach utrzymującego się ujemnego bilansu energetycznego dochodzi do zaburzeń funkcjonowania sieci neuralnej w podwzgórzach, kontrolującej uwalnianie GnRH⁵⁹.

Do zaburzeń czynnościowych pochodzenia podwzgórzowego dochodzić może również w wyniku nadmiernego wysiłku fizycznego lub stresu psychicznego, które w podobnym mechanizmie jak spadek masy ciała doprowadzają do braku miesiączki. Nadmierny wysiłek fizyczny w trakcie obciążającego treningu fizycznego, jak wśród pływaczek, wioślarek, czy biegaczek oraz gdy dołączająca się konieczność dbania o nienaganną sylwetkę ciała (gimnastyka artystyczna, balet, łyżwiarstwo figurowe) mogą być również częstą przyczyną zatrzymania miesiączkowania. Wynika to z negatywnego wpływu niskiej masy ciała na pulsacyjne wydzielanie GnRH, prowadzące do hipogonadyzmu hipogonadotropowego⁶¹. W przypadku intensywnie ćwiczących kobiet czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki występuje u 5-10% spośród nich. Natomiast zaburzenie czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki dotyczy aż 50% profesjonalnych sportsmenek^{62 63}.

W diagnostyce czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki bardzo istotne znaczenie ma przeprowadzenie wywiadu z pacjentkami. Należy zwrócić szczególną uwagę na czas trwania braku miesiączki, epizody odchudzenia i spadki masy ciała w przeszłości, doświadczenie silnego lub przewlekłego stresu w ostatnim czasie lub wykonywania intensywnych ćwiczeń fizycznych.

W badaniach laboratoryjnych charakterystyczne są obniżone stężenie gonadotropin, szczególnie LH, oraz estradiolu w surowicy krwi. Stężenia LH i FSH w surowicy krwi oscylują poniżej 5 IU/ml, a estradiolu poniżej 20 pg/ml.

b) Neuroendokryne podłoże podwzgórzowego braku miesiączki

W patofizjologii podwzgórzowego braku miesiączki kluczową rolę odgrywają zaburzenia w obrębie pulsacyjnego wydzielania GnRH w podwzgórzu⁵⁷.

Udokumentowaną rolę w patogenezie podwzgórzowego braku miesiączki odgrywają liczne substancje działające w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i podwzgórza takie jak kortykoliberyna, kisspeptyna, leptyna, NPY, serotonina, β -endorfyny. Mechanizm działania ich opiera się przede wszystkim na bezpośrednim lub pośrednim działaniu na pulsacyjne wydzielanie GnRH w podwzgórzu⁶⁴.

CRH działa bezpośrednio inhibicyjnie na pulsacyjne wydzielanie GnRH. U pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki występują podwyższone stężenia CRH w surowicy krwi i hiperkortyzolemia⁶⁵.

Rola kisspeptyny, nie była jak dotąd analizowana w podwzgórzowym braku miesiączki. Kisspeptyna jest peptydem, który w istotny sposób stymuluje pulsacyjne wydzielanie GnRH. Dane z badań eksperymentalnych – *in vitro* i na zwierzętach wskazują na ważną rolę kisspeptyny w ośrodkowej regulacji czynności układu rozrodczego⁶⁶.

W świetle najnowszych badań wydaje się, że kluczową rolę w podwzgórzowym braku miesiączki odgrywają interakcje między stanem odżywienia, a czynnością układu rozrodczego. Hormonem, który najprawdopodobniej pełni rolę mediatora między tkanką tłuszczową, a ośrodkiem generacji pulsów GnRH jest leptyna⁶⁷. Leptyna wydzielana

jest przez tkankę tłuszczową i oddziałuje z receptorami w jądrze łukowatym podwzgórza, aktywując pulsacyjne wydzielanie GnRH⁶⁸.

Główna funkcja leptyny to sygnalizowanie stanu sytości. Odbywa się to poprzez oddziaływanie leptyny z receptorem w jądrze łukowatym podwzgórza, z którego w odpowiedzi wydzielana jest α -melanokortyna. Jest ona efektem, który przynosi sygnał o zaspokojeniu potrzeb energetycznych ustroju do jądra okołokomorowego. Stwierdzono, że stężenie leptyny spada w czynnościowym podwzgórzowym braku miesiączki, z towarzyszącym stanem niedożywienia, a w licznych badaniach wykazano iż jej niedobór skutkuje obniżeniem pulsacyjnego wydzielania GnRH i gonadotropin⁶⁹. Późniejsze badania dowiodły jednak, że leptyna nie działa bezpośrednio na neurony wydzielające GnRH, lecz na ośrodki wyższe⁶⁸.

Jednocześnie stwierdzono, że u kobiet z podwzgórzowym brakiem miesiączki stężenie leptyny jest obniżone, a jej podanie ma wpływ stymulujący na wydzielanie GnRH i gonadotropin⁶⁸.

Serotonina pełniąc funkcję neuroprzekaźnika w ośrodkowym układzie nerwowym może mieć istotne znaczenie w podłożu podwzgórzowego braku miesiączki. Działanie biologiczne serotoniny odbywa się poprzez siedem klas receptorów. W obrębie podwzgórza moduluje działanie neuropeptydu Y - głównie w zakresie wzrostu apetytu⁷⁰.

β -endorfiny stanowią grupę hormonów peptydowych, które odgrywają istotną rolę w regulacji czynności rozrodczych, czynności seksualnych, regulacji funkcji układu krążenia. β -endorfiny wydzielane są w jądrze łukowatym podwzgórza. Podobnie jak CRH, działa inhibycyjnie na pulsacyjne wydzielanie GnRH. Zwiększona aktywność opioidergiczna może leżeć u podłoża podwzgórzowego braku miesiączki⁵⁶.

5. Jadłowstręt psychiczny (anorexia nervosa)

Jadłowstręt psychiczny (anorexia nervosa- AN) to zaburzenie dotyczące przyjmowania pokarmów, charakteryzujące się skrajnym ograniczeniem jedzenia oraz nieprawidłowym postrzeganiem własnego ciała, jego masy i kształtu. Towarzyszy temu

niewytłumaczalny strach przed przybraniem masy ciała oraz bezwzględna obsesja otyłości, nawet w obliczu zwiększającego się wyniszczenia organizmu i kacheksji ⁷¹. U pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym oprócz zaburzeń odżywiania występuje również podwzgórzowy brak miesiączki ⁶⁰.

Amerykańskie Towarzystwo Psychiatrii w 1994 roku (w roku 2000 kryteria zostały uaktualnione) ustaliło kryteria diagnostyczne jadłowstrętu psychicznego (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV), które są powszechnie stosowane:

- brak akceptacji psychicznej utrzymania masy ciała na poziomie minimum normy odpowiedniej dla wieku i wzrostu (utrata masy ciała prowadząca do stanu poniżej 85% masy należnej lub niemożność przyrostu masy ciała w okresie wzrostu do 85% masy należnej),
- stała obawa przed wzrostem masy ciała lub otyłością, nawet w razie niedowagi ciała,
- zaburzenia w samoocenie dotyczące masy i wyglądu ciała; prawidłowa masa ciała jest postrzegana jako nadmierna, a niska masa ciała jako prawidłowa,
- u osób wcześniej miesiączkujących występuje wtórny brak miesiączki ⁷².

Częstość występowania jadłowstrętu psychicznego wśród młodzieży i młodych kobiet wynosi około 0,5-1% populacji. W ostatnich 10 latach obserwuje się wzrost występowania zaburzeń odżywiania, a w szczególności jadłowstrętu psychicznego ⁷³. Nowe zachorowania to rocznie około 5-10/100 000 u osób między 15-19 rokiem życia.

Czynnikami ryzyka wystąpienia jadłowstrętu psychicznego są niewątpliwie wiek oraz płeć. Najczęściej początek zaburzeń odżywiania pojawia się w okresie dojrzewania, sporadycznie wcześniej, a wyjątkowo rzadko później. Warto podkreślić, iż w 90-95% dotyczy płci żeńskiej ⁷³. Tak znaczna różnica w zakresie częstszego występowania jadłowstrętu psychicznego u płci żeńskiej nadal nie jest do końca wyjaśniona. Najbardziej istotnym wydaje się być fakt, wywieranej na kobietach społecznej presji utrzymywania niskiej masy ciała jako najbardziej pożądanego i cennego atrybutu kobiecości ⁷⁴.

Natomiast wskaźnik zachorowalności u chłopców mieści się w granicach od 5-10% osób chorujących. Niską zachorowalność chłopców na jadłowstręt psychiczny wyjaśnić można mniejszym stresem związanym z dojrzewaniem biologicznym ⁷⁴.

Ponadto, stwierdza się większą zachorowalność u osób pochodzących ze średnich i wyższych warstw społecznych, oraz u osób posiadających wyższe wykształcenie. Bardzo rzadko spotyka się przypadki jadłowstrętu psychicznego w krajach głodujących. Zaburzenie to występuje w Stanach Zjednoczonych oraz Europie Zachodniej przeciętnie u jednej na 200 dziewcząt w okresie dojrzewania⁷³. Przedstawiciele rasy białej chorują częściej, szczególnie dziewczęta z rodzin żydowskich i włoskich. Częstość występowania jadłowstrętu psychicznego u osób rasy czarnej jest bardzo niska. W krajach Ameryki Południowej czy Dalekiego Wschodu zaburzenia odżywiania są także sporadycznie rozpoznawane⁷³. Współczesne badania wskazują, iż emigracja, wiążąca się ze zmianą tradycyjnych wartości własnej kultury i z koniecznością asymilowania nowych wzorców, zwiększają ryzyko wystąpienia zaburzeń odżywiania się⁷⁴.

Ponadto ścisłe przestrzeganie różnego rodzaju diet sprzyja w przyszłości rozwojowi nieprawidłowego postrzegania masy i kształtu własnego ciała oraz rozwoju zaburzeń odżywiania⁷³.

Czynnikami ryzyka wystąpienia jadłowstrętu psychicznego mogą być również takie cechy charakteru jak niskie poczucie własnej wartości, nerwowość, skłonność do odczuwania niepokoju, oraz doświadczenia osobiste związane z zaburzonymi relacjami z rodzicami, molestowanie seksualne⁷⁴.

Występowanie zaburzeń odżywiania w wywiadzie rodzinnym zdaje się również być istotnym, jednak niezbyt dobrze poznanym jeszcze czynnikiem ryzyka⁷⁴.

Na uwagę zasługuje fakt wysokiej śmiertelności u pacjentów z jadłowstrętem psychicznym, którą szacuje się w granicach między 2-10% w przeciągu 5-10 lat choroby. Samobójstwa stanowią połowę z tej puli. Jednak wiele pacjentek z jadłowstrętem psychicznym o słabym nasileniu nie trafia do leczenia i dlatego rzeczywiste dane liczbowe dotyczące rozpowszechnienia i śmiertelności tego zaburzenia nie są znane^{73 74}.

Młode kobiety cierpiące na jadłowstręt charakteryzują się określonym profilem psychicznym. Główne cechy to stałe dążenie do perfekcjonizmu, introwertyzm, zaburzone postrzeganie własnego ciała oraz obsesyjne myśli związane z idealnym jego kształtem⁷⁵.

Według DSM-IV występują trzy typy jadłowstrętu psychicznego. Pierwszym z nich jest typ restrykcyjny, charakteryzujący się utratą masy ciała i znacznym ogra-

niczeniem podaży kalorii. Natomiast drugi to typ bulimiczny, z epizodami objadania się i stosowaniem sposobów oczyszczających takich jak wymioty, środki przeczyszczające i moczopędne. Wyróżniamy również typ trzeci jadłowstrętu psychicznego, tak zwany typ niesklasyfikowany⁷².

Natomiast, według Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych (ICD-10) jadłowstręt psychiczny należy do grupy zespołów behawioralnych związanych z zaburzeniami fizjologicznymi i czynnikami fizycznymi. W zakresie jadłowstrętu psychicznego wyróżniamy:

- jadłowstręt psychiczny atypowy,
- żarłoczność psychiczną (bulimia nervosa),
- atypową żarłoczność psychiczną,
- przejadanie się związane z innymi czynnikami psychologicznymi,
- wymioty związane z innymi czynnikami psychologicznymi,
- inne zaburzenia odżywiania się,
- zaburzenia odżywiania się, nie określone⁷⁴.

U pacjentów z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym stwierdza się nieprawidłowe funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-nadnercza⁷⁶. Wiele badań wskazuje, że przyczyną dysfunkcji tej osi (pierwotną lub wtórną do zaburzeń w obrębie wyższych pięter ośrodkowego układu nerwowego) jest hipersekrekcja kortykoliberyny (u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym stwierdza się podwyższone stężenia kortykoliberyny w płynie mózgowo-rdzeniowym)^{77 78}.

W badaniach na gryzoniach wykazano, że podczas głodzenia, zmniejsza się synteza kisspeptyny, najprawdopodobniej w odpowiedzi na spadek stężenia leptyny wydzielanej przez tkankę tłuszczowa. W doświadczeniach na zwierzętach i *in vitro*, wykazano że zmniejszone stężenie leptyny, który występuje w czasie niedożywienia, zwiększa stężenie NPY, wpływając wydzielanie GnRH i gonadotropin⁷⁹.

Niskie wartości leptyny utrzymują się również wiele lat po rozpoznaniu i leczeniu jadłowstrętu psychicznego oraz u pacjentek, które znacznie przybrały na masie ciała⁸⁰. Stężenia leptyny korelują ze stężeniami IGF-I, hormonu, którego wydzielanie szybko maleje podczas stosowania restrykcji kalorycznych. IGF-I może być czynnikiem mającym niezależny wpływ regulujący na wydzielanie leptyny⁸¹.

Pacjentki cierpiące na jadłowstręt psychiczny charakteryzują się obniżonymi stężeniami β -endorfin w płynie mózgowo-rdzeniowym, co powoduje obniżenie aktywności układu noradrenergicznego. Dla obniżenia aktywności układu noradrenergicznego charakterystyczne są między innymi takie objawy jak bradykardia, hipotermia, niedociśnienie czy zaburzenia depresyjne. Do zwiększenia stężenia β -endorfin u pacjentów z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym dochodzi dopiero po powrocie do prawidłowej masy ciała ⁸².

Badanie z 2005 roku, pokazuje, że u pacjentów cierpiących na jadłowstręt psychiczny stwierdza się także znacznie obniżone stężenie serotoniny w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz nieprawidłową czynność receptorów serotoniny w ośrodkowym układzie nerwowym. Nieprawidłowości te utrzymują się nawet po uzyskaniu prawidłowej masy ciała. Dysfunkcja układu serotonergicznego stanowi przyczynę impulsywności i agresywności ale zarazem większej skłonności do występowania zaburzeń depresyjnych ⁸³.

U pacjentów z jadłowstrętem psychicznym stwierdza się zwiększoną częstotliwość pulsów somatoliberyny (GH-RH) w podwzgórzu oraz wynikające z tego podwyższone stężenia GH w surowicy krwi. Stężenie IGF-I u pacjentów z jadłowstrętem psychicznym jest obniżone i nie wykazuje korelacji ze stężeniami hormonu wzrostu ⁴⁵.

6. Wpływ podwzgórzowego braku miesiączki i jadłowstrętu psychicznego na funkcje rozrodcze i metaboliczne

Kobiety z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym wykazują hipogonadyzm hipogonadotropowy pochodzenia podwzgórzowego. Kluczowe znaczenie ma zaburzenie pulsacyjnego wydzielania GnRH, a przede wszystkim obniżona częstotliwość pulsów GnRH. Obserwuje się znacznie obniżone stężenie LH i FSH oraz niskie stężenie estradiolu ⁵⁷. Ze względu na zmniejszoną zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie, konwersja androgenów w estrogeny jest zredukowana. Obserwowany u tych pacjentek hipoestrogenizm ma niezwykle negatywny wpływ na zdrowie kobiety zarówno w krótkofalowej, jak i odległej perspektywie ⁶¹.

Wśród zaburzeń funkcji rozrodczych najczęściej obserwowane jest opóźnione menarche, dysharmonizacja procesu dojrzewania płciowego (odpowiedzialna między

innymi za zmianę proporcji ciała), spadek napięcia tkanki piersiowej. Dodatkowo u kobiet, u których stwierdzamy hipiestrogenizm, dochodzi do zmian zanikowych w obrębie błony śluzowej przedsionka pochwy oraz w mięśniu macicy, prowadzące do rozwoju hipoplastycznej macicy, braku owulacji i związanej z tym niepłodności⁸⁴.

Konsekwencje metaboliczne obserwowane u kobiet z głębokim hipiestrogenizmem związane są najczęściej ze wzrostem stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL (low density lipoproteins) cholesterolu i apolipoproteiny B, z jednoczesnym spadkiem apolipoproteiny A1 (apoA1) oraz stosunku apoA1 do apolipoproteiny B (apoB)⁸⁵. Istotnym, lecz często niedocenianym problemem u tych pacjentek jest hipokalemia, zasadowica hipochloremiczna, hipoglikemia czy hipofosfatemia⁸⁶.

W obrębie układu sercowo-naczyniowego u kobiet z hipiestrogenizmem obserwujemy upośledzenie funkcji śródbłonna, wzrost oporu tętnic obwodowych ze zmniejszeniem przepływu krwi, zwolnienie czynności serca związanego z dysregulacją autonomiczną⁸⁵.

Skojarzenie wymienionych zaburzeń metabolicznych i kardiologicznych, powoduje rozwój fenotypu aterogennego u pacjentek z hipiestrogenizmem⁸⁵. Nasilenie tych zaburzeń jest proporcjonalne do długości trwania niedoboru estrogenów, niemniej jest już obserwowane przy krótkotrwałej (<100 dni) niedoczynności jajników. Ponadto, u kobiet z podwzgórzowym brakiem miesiączki w zakresie zaburzeń układu sercowo-naczyniowego możemy spotykać się ze zmniejszoną tolerancją wysiłku, kardiomiopatią, omdleniami ortostatycznymi, bradykardią pochodzenia zatokowego czy wysiękiem do worka osierdziowego. W zakresie układu hematologicznego może wystąpić niedokrwistość i leukopenia⁸⁵.

Dane płynące z obserwacji kobiet z hipiestrogenizmem, wskazują także na dodatkowe zagrożenia zdrowotne związane z niedoborem estrogenów: zaburzenia rozwoju centralnego układu nerwowego, obniżenie zdolności kognitywnych (werbalnych i niewerbalnych) oraz pamięci, wzrost ryzyka rozwoju chorób demencyjnych. Dodatkowo obserwować możemy zmiany w obrębie układu neurologicznego takie jak napady padaczkowe, neuropatie obwodowe, zespoły uciskowe, zmiany w zapisie elektroencefalograficznym i w obrazie tomografii komputerowej^{87 88}.

Funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-tarczyca (tyreoliberyna-tyreotropina-trójjodotyronina i tyroksyna) ma kluczowe znaczenie dla funkcji i metabolizmu hormonów gruczołu tarczowego. Większość pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesią-

czki wykazuje obniżone stężenia trójiodotyroniny oraz obniżone lub pozostające w normie stężenie tyroksyny i TSH w surowicy krwi. Stężenia trójiodotyroniny są istotnie statystycznie niskie w czasie rozpoznania hipostrogenizmu i normalizują się wraz z przyrostem masy ciała. Natomiast stężenia tyroksyny i TSH mają podobne wartości w trakcie rozpoznania jak i po przyroście masy ciała. Niskie stężenia fT_3 u pacjentek z rozpoznaniem podwzgórzowym brakiem miesiączki spowodowane są obwodową (w wątrobie i nerkach) przemianą fT_4 w kierunku nieaktywnego metabolitu odwrotnej trójiodotyroniny (reverse- T_3)⁸⁹. Dodatkowo, w badaniu ultrasonograficznym obserwujemy zmniejszoną masę gruczołu tarczowego u chorych z jadłowstrętem psychicznym, co jest spowodowane działaniem obniżonego stężenia IGF-I w surowicy krwi⁶⁸.

Głównymi elementami osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej są kortykoliberyna (CRH), adrenokortykotropina (ACTH) oraz kortyzol wydzielany przez korę nadnerczy. U pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki stwierdza się podwyższone stężenia kortykoliberyny (CRH) w płynie mózgowo-rdzeniowym, które mają bezpośredni wpływ hamujący na wydzielanie GnRH w podwzgórzu. U pacjentów z podwzgórzowym brakiem miesiączki stwierdza się podwyższone stężenia kortyzolu w surowicy krwi, ślinie i w moczu. Stężenie ACTH jest w normie u pacjentów z jadłowstrętem psychicznym. Ważne znaczenie ma fakt, iż podwyższone stężenie kortyzolu wpływa negatywnie na gęstość mineralną kości⁶⁵. Podobne zmiany (wzrost kortyzolu oraz CRH) charakterystyczne są również dla pacjentów cierpiących na zaburzenia depresyjne⁸⁹.

Zaburzenia dotyczące układu pokarmowego u kobiet z jadłowstrętem psychicznym to najczęściej przewlekłe stany zapalne gardła i przełyku, trudności w połykaniu, wzdęcia, nudności, zaparcia, uczucie pełności w brzuchu i opóźnione opróżnianie żołądka, a także ubytki i próchnica zębów⁸⁶.

Dodatkowo mogą wystąpić inne zaburzenia takie jak hipowitaminoza, zmiany skórne (ścieńczenie włosów, hipertrichosis, suchość skóry, łysienie plackowate) czy łamliwość paznokci⁸⁶.

Istotne zmiany metaboliczne u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym związane są również z gęstością mineralną kości. Podwzgórzowy brak miesiączki jako stan głębokiego hipostrogenizmu bardzo negatywnie wpływa na kształtowaną gęstość tkanki kostnej. Dlatego też pacjentki z podwzgórzowym brakiem miesiączki charakteryzują się

obniżoną gęstością tkanki kostnej co wyraża się osteopenią lub osteoporozą. Mimo, że generalnie gęstość tkanki kostnej u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki jest mniej obniżona niż w przypadku pacjentek z jadłowstrętem psychicznym to jednak jest to istotny problem kliniczny. Pojęcie „triada sportsmenek“ odnosi się do sytuacji, w której występują zaburzenia jedzenia, brak miesiączki oraz osteoporoza. Dlatego też diagnostyka i leczenie pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki w kierunku osteopenii i osteoporozy ma bardzo ważne znaczenie ⁹⁰.

Formowanie się szczytowej masy kostnej ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego zdrowego kośćca oraz profilaktyki osteopenii i osteoporozy. Proces ten w głównej mierze przypada na dojrzewania (około 50% szczytowej masy kostnej jest kształtowane w okresie dojrzewania). Czynniki genetyczne, żywieniowe i hormonalne mają wiodące znaczenie w kształtowaniu szczytowej masy kostnej. Wśród czynników hormonalnych na pierwszy plan wysuwają się estrogeny. Stwierdzone u kobiet z hipostrogenizmem obniżenie gęstości mineralnej kości może prowadzić do osteopenii, a następnie do osteoporozy. W wyniku wyżej wymienionych zmian dochodzi do wzrostu częstości złamań kości i występowania skoliozy ⁹¹.

Prawidłowy metabolizm tkanki kostnej jest w dużym stopniu uwarunkowany prawidłowym stężeniem estrogenów w surowicy krwi. Stany związane z hipostrogenizmem (podwzgórzowy brak miesiączki, okres okołomenopauzalny, przedwczesne wygasanie czynności jajników, dysgeneza gonad) prowadzą do istotnego obniżenia masy kostnej ⁹².

Osteopenia i osteoporoza są bardzo częstym i trwałym powikłaniem jadłowstrętu psychicznego, prowadzącym do zwiększenia aż siedmiokrotnie ryzyka złamań kości. U więcej niż 50 % pacjentów już w chwili rozpoznania jadłowstrętu psychicznego występuje osteopenia, która spowodowana jest właśnie głębokim hipostrogenizmem ^{75 93}.

W jadłowstręcie psychicznym pierwotną przyczyną osteoporozy jest znacznie osłabiony mechanizm tworzenia się kości ⁹². Wystąpienie jadłowstrętu psychicznego w okresie dojrzewania może osłabić pokwitaniowy skok wzrostu. Spowodowane jest to w dużej mierze obniżonym stężeniem estradiolu oraz IGF-I w surowicy krwi, który występuje u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym. Gęstość kości koreluje w sposób odwrotnie proporcjonalny do długości trwania braku miesiączki w jadłowstręcie psychicznym ⁹³.

Miller i wsp. ⁹⁴ wykazali, że średni roczny ubytek w zakresie gęstości tkanki kostnej u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym wynosi 2,5% ⁹⁴.

7. Rola peptydów jajnikowych i steroidów płciowych w rozrodzie i zaburzeniach hormonalnych

W ostatnim czasie dyskutowane jest znaczenie peptydów jajnikowych w podwzgórzowym czynnościowym braku miesiączki.

Inhibiny należą do nadrodziny transformującego czynnika wzrostu typu β (TGF- β - transforming growth factor- β) ⁹⁵. Rodzina ta obejmuje około 30 peptydów, w tym między innymi inhibiny, aktywiny, hormon antymüllerowski (Anti-Müllerian Hormone – AMH), nabłonkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor - EGF) oraz podrodzinę transformującego czynnika wzrostu- β (TGF- β) ⁹⁵.

Inhibiny scharakteryzowano jako glikoproteiny, składające się z glikozylowanej podjednostki α , połączonej mostkiem dwusiarczkowym z jedną z dwóch różnych podjednostek β (betaA lub betaB). Powstałe inhibiny są odpowiednio oznaczane jako inhibina-A (alfa betaA) i inhibina-B (alfa betaB) ⁹⁵.

Termin „inhibina” zaproponował McCullagh już w 1932. Określił on inhibinę jako hydrofilną substancję z wyciągu męskich gonad, która hamuje funkcje przysadki mózgowej. Jednak dopiero 53 lata później po raz pierwszy dokonano izolacji inhibiny z płynu pęcherzykowego u krów ⁹⁶.

Inhibiny odgrywają istotną rolę w funkcjach rozrodczych poprzez regulację przysadkowego wydzielania FSH i hamowania wydzielania GnRH w czasie cyklu miesięczkowego ⁹⁷. Regulacja ta odbywa się poprzez mechanizm sprzężenia zwrotnego. FSH pobudza dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych, których komórki ziarniste produkują inhibiny. Podwyższone stężenie inhibin we krwi obwodowej hamuje wydzielanie FSH. Rola stężeń inhibin u kobiet z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki nie jest dokładnie określona ⁹⁷.

Estradiol należy do grupy steroidowych hormonów płciowych: estrogenów, wytwarzanych z cholesterolu jak wszystkie hormony steroidowe. Bezpośrednim substrat-

tem do jego syntezy przy użyciu aromatazy jest androstendion i testosteron. Synteza zachodzi w jajnikach oraz w niewielkim stopniu w innych tkankach, takich jak łożysko, tkanka tłuszczowa, kości, mózg. W osoczu estrogeny występują w formie związanej z albuminami lub globuliną wiążącą steroidy płciowe (SHBG - sex hormone-binding globulin).⁹⁸.

Estrogeny są hydroksylowane w wątrobie i sprzęgane z kwasem glukuronowym, a następnie wydalane z żółcią i moczem. Część estrogenów wydalanych z żółcią jest następnie eliminowana z kałem, a część powtórnie wchłaniana w jelicie (krążenie wątrobowo-jelitowe)⁹⁸.

Estradiol u kobiety wpływa na wiele cech oraz funkcji organizmu związanych z funkcjami rozrodczymi.

U mężczyzn estrogeny są w niewielkich ilościach produkowane przez jądra i korę nadnerczy⁹⁸.

a) Inhibina B

Inhibina B jest wydzielana przede wszystkim w komórkach ziarnistych jajnika w czasie fazy folikularnej cyklu miesięczkowego⁹⁷. Stężenie inhibiny B w surowicy krwi wyraźnie rośnie we wczesnej fazie folikularnej, z widocznym pikiem wydzielania występującym po wzroście FSH oraz stopniowo maleje w późnym okresie fazy folikularnej. Kolejny pik wydzielania inhibiny B obserwujemy dwa dni po pikie LH, a następnie jej szybki spadek, co doprowadza do niskich stężeń inhibiny B w fazie lutealnej⁹⁷.

Inhibina B uważana jest za marker wzrostu pęcherzyków i może być stosowana do monitorowania owulacji i oceny rezerwy jajnikowej⁹⁹. Rezerwę jajnikową stanowi ilość pęcherzyków jajnikowych oraz jakość zawartych w nich oocytów. Mianem zredukowanej rezerwy jajnikowej określa się zmniejszenie ilości pęcherzyków oraz pogorszenie jakości oocytów, co oznacza pogorszenie funkcji rozrodczych kobiety¹⁰⁰.

Jednak najbardziej prognostycznym parametrem określenia rezerwy jajnikowej jest oznaczanie stężeń AMH i inhibiny B w surowicy krwi oraz ocena liczby pęcherzyków antralnych i objętość jajników⁹⁹.

Inhibina B jest podstawowym parametrem rezerwy jajnikowej, której stężenia we wczesnej fazie folikularnej odzwierciedlają ilość oraz jakość pęcherzyków jajnikowych. Obserwujemy wyraźną dodatnią korelację pomiędzy stężeniami inhibiny B i liczbą pęcherzyków antralnych ocenianych w badaniu ultrasonograficznym w początkowych dniach cyklu miesięczkowego¹⁰¹. Ocena stężenia inhibiny B znajduje zastosowanie w procedurach wspomaganego rozrodu jako czynnik predykcyjny odpowiedzi jajników na stymulację owulacji¹⁰¹.

Wydzielanie inhibin zmienia się w związku z wiekiem pacjenta¹⁰². U regularnie miesiączkujących kobiet w okresie premenopauzalnym pomimo prawidłowych stężeń estradiolu i LH, stwierdzamy podwyższone stężenia FSH podczas fazy folikularnej cyklu miesięczkowego. To wyższe stężenie FSH pojawia się na kilka lat przed wystąpieniem menopauzy i towarzyszy zmniejszonej rezerwie jajnikowej oraz obniżonemu współczynnikowi płodności¹⁰³. Obserwowane zwiększone stężenie FSH wynika ze znacznie zmniejszonej produkcji inhibiny B przez zredukowaną pulę pęcherzyków jajnikowych w fazie folikularnej¹⁰⁴. Stężenia inhibiny A również ulegają obniżeniu u kobiet w okresie premenopauzalnym. U tych pacjentek początkowo dochodzi do obniżenia stężenia inhibiny B w fazie folikularnej, a dopiero w drugiej kolejności dochodzi do obniżenia stężenia inhibiny A¹⁰⁵. Stężenia zarówno inhibiny A jak i inhibiny B u kobiet w okresie menopauzy są prawie nieoznaczalne^{106 107}.

Jak dotąd, przeprowadzono jedynie trzy badania oceniające stężenie inhibiny B u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki, które dały sprzeczne wyniki.

U pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki obserwowane były obniżone stężenia inhibiny B w surowicy krwi lub niezmienione^{108 109 110}.

W 2011 Luisi i wsp.¹¹¹ opisali stężenia inhibiny B u kobiet z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym. Stwierdzono istotnie statystycznie niższe wartości inhibiny B u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki ($p < 0,0001$) oraz u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym ($p < 0,05$) w porównaniu z grupą kontrolną¹¹¹.

Wartości stężenia inhibiny B, jak również FSH i AMH w surowicy krwi u kobiet cierpiących na jadłowstręt psychiczny mogą być istotnym czynnikiem prognostycznym powrotu prawidłowej funkcji jajnika. U pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym obserwujemy obniżone stężenia inhibiny B, a jego normalizacja następuje dopiero po przyroście masy ciała oraz powrocie regularnych samoistnych cykli miesięczkowych¹¹². U pacjentek, u których dochodzi do szybszego powrotu do zdrowia, wyjściowe stężenia inhibiny B są wyższe w porównaniu z pacjentkami, u których mimo przyrostu masy ciała, nie stwierdza się powrotu cykli miesięczkowych. Niższe wyjściowe stężenia inhibiny B w surowicy krwi mogą świadczyć o głębszym zaburzeniu funkcji jajników oraz o konieczności dłuższego leczenia^{113 114}.

Pacjentki z rozpoznaniem zespołem policystycznych jajników charakteryzują się podwyższonymi stężeniami inhibiny B w surowicy krwi, prowadzące do względnego braku FSH¹¹⁵.

U pacjentek z rozpoznaniem przedwczesnego wygasania czynności jajników (POF) stwierdzamy znacznie obniżone stężenia inhibin w surowicy krwi¹¹⁶. Stężenia zarówno inhibiny A jak i inhibiny B u pacjentek z POF są porównywalne do stężeń u kobiet w okresie pomenopauzalnym i nie korelują z wiekiem pacjentki, czasem trwania braku miesiączki i stężeniami gonadotropin¹⁰⁷.

Oznaczanie stężeń inhibiny A i B może być przydatne w ocenie funkcjonowania jajników u pacjentek z zespołem Turnera we wczesnym okresie dojrzewania. Inhibiny A i B są obecne w surowicy krwi u części pacjentek z zespołem Turnera, mimo braku objawów świadczących o jakiegokolwiek funkcji jajników¹¹⁷.

b) Inhibina A

Inhibina A wydzielana jest głównie przez pęcherzyki dominujące oraz ciało żółte jajnika. Ponadto, źródło tego peptydu stanowią także nadnercza, przysadka, śledziona, szpik kostny, łożysko i błony płodowe¹¹⁸. Ocena stężenia inhibiny A może być wykorzystywana głównie w diagnostyce położniczej¹¹⁹.

Stężenie inhibiny A w surowicy krwi we wczesnej fazie folikularnej jest niskie. Zaczyna rosnąć w czasie późnej fazy folikularnej, osiągając swój pik wydzielania

w połowie fazy lutealnej. W trakcie całej fazy folikularnej cyklu miesięczkowego stężenie inhibiny B jest wyższe od stężenia inhibiny A w surowicy krwi ¹²⁰.

Według obecnej wiedzy inhibina A może mieć znaczenie w rozpoznawaniu ciąży ekotopowej, zaśnięcia groniastego, zagrażającego poronienia, stanu przedrzucawkowego oraz ciąży z zespołem Downa ¹²¹.

U kobiet z ciążą ektopową stwierdza się niższe stężenia inhibiny A w porównaniu z kobietami z ciążą wewnątrzmaciczną. Dotychczasowe badania sugerują możliwość zastosowania oznaczeń inhibiny A w przypadkach podejrzenia ciąży ekotopowej ¹²².

U ciężarnych ze stanem przedrzucawkowym stwierdza się podwyższone stężenia inhibiny A w surowicy krwi oraz pozytywną korelację stężeń inhibiny A ze stężeniami β -hCG ¹²³.

Stwierdza się zwiększone stężenie inhibiny A w surowicy krwi kobiet w drugim trymestrze ciąży z zespołem Downa ¹²⁴. Ponadto, u kobiet w ciąży z zespołem Downa stwierdza się obniżone stężenia inhibiny A w płynie owodniowym ¹²⁵. Oznaczanie stężenia inhibiny A w surowicy krwi u kobiet ciężarnych nie może być stosowane jako pojedynczy marker w rozpoznawaniu ciąży z zespołem Downa ¹²⁶.

Do tej pory nie zostały ocenione stężenia inhibiny A w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i u pacjentek z jądłowstrętem psychicznym.

c) Inhibina całkowita

Inhibina całkowita to suma prekursorów, podjednostek i cząsteczek inhibin. Może mieć znaczenie w zespole policystycznych jajników oraz może służyć jako potencjalny marker nowotworów jajnika.

W 1989 Lappohn i wsp. ¹²⁷ po raz pierwszy stwierdzili podwyższone stężenie całkowitej inhibiny u kobiet w okresie menopauzy z rozpoznaniem ziarniszczeniakiem ¹²⁷. Badania prowadzone przez Healy i wsp. ¹²⁸ wykazały podwyższone stężenie całkowitej inhibiny w 70 % przypadkach pacjentek z rozpoznaniem śluzowego raka jajnika ¹²⁸.

U kobiet w okresie menopauzalnym stężenia całkowitej inhibiny w surowicy krwi są bardzo niskie, praktycznie nieoznaczalne. Dlatego właśnie, nawet najmniejsze zwiększenie stężenia całkowitej inhibiny w surowicy krwi, które są produkowane przez nowotwór, są wykrywane. Aż 66% raków jajnika u kobiet w okresie menopauzy jest wykrywane za pomocą oznaczania stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi^{129 130}.

W 2011 roku Luisi i wsp.¹¹¹ przebadali 64 kobiety z czynnościowym brakiem miesiączki i 18 kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym. Oznaczyli stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u tych pacjentek. Stężenia inhibiny całkowitej były istotnie statystycznie niższe u kobiet z grupy badanej w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej¹¹¹.

d) Hormon antymüllerowski (AMH)

Hormon antymüllerowski (Anti-Müllerian Hormone - AMH) znany również jako czynnik hamujący Müllera (MIS- Müllerian-inhibiting substance, MIF-Müllerian inhibiting factor, Müllerian-inhibiting hormone-MIH) to glikoproteina należąca do nadrodziny peptydowych czynników wzrostu TGF β (Transforming growth factor beta)¹³¹.

U ludzi, gen AMH znajduje się na końcu krótkiego ramienia chromosomu 19¹³². Główna rola AMH to hamowanie rozwoju przewodów Müllera (przewody przyśródnerczowe - Müllerian ducts) w zarodkach, podczas różnicowania płci w kierunku męskim. Przewody te po raz pierwszy zostały opisane w 1830 roku przez niemieckiego fizjologa o nazwisku Müller. Przewody przyśródnerczowe to para przewodów wykształcających się z nabłonka mezodermalnego, z których rozwijają się żeńskie narządy płciowe. U płodów żeńskich z części proksymalnych przewodów rozwijają się jajowody, ze środkowych macica, a z dystalnych, górna część pochwy. U płodów męskich pod wpływem działania AMH przewody te ulegają uwstecznieniu, tworząc narządy szczątkowe: przyczepki jądra, przyczepki najądrza i łagiewkę sterczową¹³³.

U płodów i noworodków płci męskiej AMH wytwarzany jest jedynie przez niedojrzałe komórki Sertoliego w jądrach. Początek transkrypcji AMH został stwierdzony około 8 tygodnia życia płodowego. Maksymalne wydzielanie tego hormonu stwierdza się około 12 do 16 tygodnia życia płodowego i poziom jego wzrasta do drugiego roku życia, następnie do okresu pokwitania stopniowo zmniejsza się, a u dorosłych mężczyzn obniża się do granicy wykrywalności¹³⁴. U kobiet AMH jest pro-

dukowany przez komórki ziarniste pęcherzyków pierwotnych, preantralnych i małych antralnych ¹³⁵.

U płodów płci żeńskiej ekspresję AMH stwierdza się od 36 tygodnia ciąży ¹³⁶. Ekspresja AMH rozpoczyna się niezwłocznie od momentu rekrutacji pęcherzyka i trwa do fazy rozwoju pęcherzyka w stadium rozwoju antralnego (rozmiar około 4 mm) ¹³⁷.

Stężenie AMH w surowicy krwi u kobiet koreluje z liczbą pęcherzyków antralnych obliczoną na podstawie badania ultrasonograficznego i jest wykładnikiem rezerwy jajnikowej. Stężenie hormonu zmniejsza się wraz z wiekiem, a w okresie pomonopauzalnym jest on niewykrywalny we surowicy krwi. AMH może zatem być użytecznym klinicznie markerem oceny rezerwy jajnikowej ¹³⁸.

AMH dominuje w obrębie małych pęcherzyków ludzkich jajników, co spowodowało zainteresowanie AMH u kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS) ¹³⁹.

AMH wydaje się być dobrym markerem rezerwy jajnikowej. Badania nad zastosowaniem AMH jako markera „starzenia” się jajników u kobiet wykazały, że jego stężenie w surowicy krwi obniża się przed pojawieniem się oznak zbliżającej się menopauzy takich jak: zmiany stężenia FSH i inhibiny B, czy liczby pęcherzyków antralnych. Stwierdzono, że stężenie AMH u kobiet w okresie rozrodczym obniża się z wiekiem w stosunku do stężeń nieoznaczalnych po menopauzie ¹³⁸. Stężenie AMH obniża się zarówno u kobiet zdrowych, jak i pacjentek z PCOS, przy czym u tych drugich wykazuje wyższe wartości wyjściowe ¹³⁹.

Badania nad rolą AMH jako markera rezerwy jajnikowej prowadzono również u kobiet po chemioterapii przeprowadzonej w dzieciństwie. W badaniach tych wykazano częściową utratę rezerwy jajnikowej, której towarzyszyło obniżenie stężenia AMH w surowicy krwi, wzrost FSH i obniżenie objętości jajników. Wyniki te świadczą, że AMH może być markerem rezerwy jajnikowej również u młodych kobiet po chemioterapii ¹⁴⁰.

Moran i wsp. ¹⁴¹ u pacjentek o niższym wyjściowym stężeniu AMH wykazali lepszy efekt przyrostu masy ciała na występowanie regularnych cykli miesięczkowych ¹⁴¹.

W 2011 Luisi i wsp. ¹¹¹ oznaczyli stężenia AMH w surowicy krwi pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu AMH w surowicy krwi u pacjentek z grupy badanej w porównaniu z grupą kontrolną¹¹¹.

e) Estrogeny

Estrogeny to steroidowe hormony płciowe, do których zaliczamy estradiol, estriol i estron. Działanie estrogenów w zakresie budowy ciała to przede wszystkim kształtowanie się żeńskich narządów płciowych i gruczołów sutkowych w czasie rozwoju płodowego oraz po urodzeniu (I i II-rzędowe cechy płciowe), to także rozwój II-rzędowych cech płciowych kobiecych (m. in. budowa ciała, typ owłosienia) oraz kształtowanie się psychiki i popędu płciowego (IV-rzędowe cechy płciowe)¹⁴².

W zakresie procesów biochemicznych estrogeny odpowiedzialne są za regulację cyklu miesięczkowego. Szczególną rolę odgrywają w pierwszej fazie cyklu, w której stymulują rozrost błony śluzowej macicy, przygotowując macicę do implantacji zarodka. Dodatkowo, pobudzają gruczoły śluzowe szyjki macicy do wydzielania śluzu szyjkowego, a w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego powodują rozrost endometrium i ułatwiają zagnieżdżenie jaja¹⁴².

Estrogeny w obrębie jajowodu odpowiedzialne są za pobudzanie nabłonka migawkowego do wzrostu oraz zwiększenie perystaltyki jajowodów.

Synteza estradiolu regulowana jest przez FSH wydzielanego przez przysadkę mózgową. W jajnikach, powodują rozwój i dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych, a także syntezę receptorów dla LH i FSH w komórkach pęcherzyków jajnikowych.

W obrębie gruczołów mlekowych powodują rozrost podścieliska oraz pobudzenie wzrostu komórek pęcherzyków i przewodów wyprowadzających.

Estrogeny wpływają na układ krzepnięcia, zwiększając stężenie protrombiny, zdolność adhezyjną płytek oraz osłabiając aktywność antytrombiny III.

W zakresie gospodarki lipidowej estrogeny zwiększają stężenie HDL cholesterolu, a obniżają poziom LDL cholesterolu, zwiększają również stężenie α -lipoprotein i fosfolipidów w surowicy krwi¹⁴³.

Estrogeny mają bardzo istotny wpływ również na kości, stymulując syntezę czynników wzrostu: TGF- β , BMP-6 i IGF-I oraz powodując wzrost ekspresji receptorów dla 1,25(OH) $_2$ D $_3$, GH i progesteronu. Ponadto, estrogeny hamują produkcję RANKL (ligand receptora aktywatora jądrowego czynnika kappaB), mając hamujący wpływ na proces osteoklastogenezy. Dodatkowo powodują wzrost ekspresji genu dla osteoprotegeryny oraz hamują syntezę cytokin proesorpcyjnych: czynnika stymulującego kolonie makrofagów (M-CSF), interleukiny 6 (IL-6) oraz czynnika nekrotyzującego guza α (TNF- α). Estrogeny stymulują apoptozę prekursorów osteoklastów (przez TGF- β), hamując osteolizę^{144 145}.

Mechanizm działania estrogenów polega na regulacji ekspresji określonych genów, przez ich połączenie z jądrowymi receptorami estrogenowymi. Połączenie hormonu z receptorem powoduje jego fosforylację, zmianę konformacji oraz łączenie się z określonym rejonem DNA¹⁴⁶.

Komórki zaopatrzone w receptory estrogenowe znajdują się głównie w macicy, jajnikach, gruczołach sutkowych oraz w pochwie¹⁴⁵.

Z uwagi na różnorodne i bardzo szerokie działanie estrogenów, zmiany zachodzące w organizmie w sytuacjach niedoboru estrogenów mogą być poważne. Konsekwencją podwzgórzowego braku miesiączki, związanego z upośledzeniem pulsacyjnego wydzielania GnRH jest głęboki hipiestrogenizm. Ma on istotny wpływ na zmiany ogólnoustrojowe i metaboliczne dotyczące całego organizmu kobiety.

8. Podłoże genetyczne czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki i jadłowstrętu psychicznego

Najczęstszymi przyczynami zaburzeń o charakterze podwzgórzowym są oprócz utraty masy ciała i nadmiernego wysiłku fizycznego, także sytuacje stresowe. W dzisiejszych czasach, gdy synonimem i atrybutem kobiecości jest promowana w mediach szczupła sylwetka ciała, dodatkowo gdy codziennej pracy towarzyszy ciągły stres, często związany z obawą jej utraty oraz gdy uprawianie sportu stało się niezbędnym

elementem naszego życia, bez którego trudno byłoby wyobrazić sobie prawidłowe funkcjonowanie, narażenie kobiet na wystąpienie zaburzeń podwzgórzowych jest ogromne. Jednak, skłonność do wystąpienia zaburzeń w zakresie osi podwzgórze-przysadka-jajnik istotnie różni się pośród potencjalnych pacjentek. Tylko u niektórych z kobiet narażonych na stres, nadmierny wysiłek fizyczny czy utratę masy ciała, wystąpią zaburzenia osi podwzgórze-przysadka-jajnik. Interesująca wydaje się być kwestia predyspozycji genetycznych do występowania czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki.

Caronia i wsp.¹⁴⁷ zidentyfikowali 6 heterozygotycznych mutacji u 55 pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki. Dwie z mutacji stwierdzono w obrębie genu kodującego receptor 1 dla czynnika wzrostu fibroblastów, dwie w obrębie genu kodującego receptor prokinetycyny 1, jedną w obrębie genu dla receptora GnRH oraz jedną w obrębie genu KAL1 wywołującego zespół Kallmanna¹⁴⁷.

W ostatnich latach skoncentrowano się również na badaniach nad podłożem genetycznym zachorowalności na jadłowstręt psychiczny. Według współczesnej wiedzy istotny wydaje się być fakt istnienia genetycznego podłoża jadłowstrętu psychicznego. Dowodem na to jest między innymi udokumentowane rodzinne występowanie powyższego zaburzenia oraz stwierdzone większe ryzyko wystąpienia jadłowstrętu psychicznego u bliźniąt monozygotycznych (w 55%) w porównaniu z bliźniętami dwuzygotycznymi (w 5%)¹⁴⁸.

Kolejnym dowodem na istotne znaczenie podłoża genetycznego w występowaniu jadłowstrętu psychicznego może być fakt utrzymywania się znacznych odchyłeń w zakresie układu serotonergicznego, dopaminergicznego oraz leptynergicznego nawet po całkowitym wyleczeniu zaburzenia^{149 150}.

Szczególne zainteresowaniem cieszą się badania nad polimorfizmem genetycznym oraz poszukiwaniem dowodów na jego biochemiczny oraz farmakologiczny wpływ na udział w etiopatogenezie zaburzenia odżywiania. Rozważane zostały polimorfizmy w obrębie genów kodujących receptory dla serotoniny, dopaminy, leptyny, neuropeptydu Y, estrogenów, melanokortyny¹⁵¹.

Przeprowadzone badania głównie skupiają się nad obserwacją genów odpowiedzialnych za funkcjonowanie układu serotonergicznego. Głównym mechanizmem odpowiedzialnym za prawidłowe działanie układu serotonergicznego w obszarach

mózgu jest zwrotny wychwyty znajdującej się pozakomórkowo serotoniny oraz liczne receptory dla serotoniny¹⁵².

Neuropeptyd Y występujący w mózgu, odpowiedzialny jest za bardzo wiele fizjologicznych procesów w ludzkim organizmie, kontrolując między innymi metabolizm, ciśnienie tętnicze krwi oraz całodobowy rytm. Działanie jego uwarunkowane jest przez odpowiednie receptory, a zaburzenie w ich funkcjonowaniu może powodować wystąpienie nadciśnienia tętniczego krwi, zaburzeń odżywiania, a także osobowości⁴².

W 1990 roku skoncentrowano się na roli żeńskich hormonów płciowych w etiopatogenezie jadłowstrętu psychicznego. Zdecydowanie częstsze występowanie jadłowstrętu psychicznego u płci żeńskiej aniżeli u płci męskiej skłoniło do rozważań na temat znacznego wzrostu poziomu estrogenów w okresie dojrzewania i ich ewentualnych korelacji z zaburzeniami odżywiania. Stwierdza się zwiększoną wrażliwość receptorów dla estrogenów w określonych obszarach mózgu. Do ekspresji genu kodującego estrogenowy receptor β dochodzi głównie w regionach mózgu odpowiedzialnych za regulację masy ciała i zużycie energii. Stwierdzono mutacje 1082G/A oraz 1730A/G genu kodującego receptor estrogenowy ER β u pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym. Jednak istotną statystycznie korelację potwierdzono tylko między występowaniem polimorfizmu 1082G/A genu kodującego receptor estrogenowy ER β w porównaniu a grupą kontrolną pacjentek¹⁵³.

Zwrócono również uwagę na geny ulegające ekspresji w komórkach tłuszczowych organizmu u pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym. Receptory adrenergiczne β_3 znajdują się właśnie w tkance tłuszczowej i są odpowiedzialne za metabolizm lipidów w organizmie. W licznych pracach przebadano geny kodujące omawiany receptor. Wyniki jednak okazały się wielokrotnie sprzeczne. Nie potwierdzono więc istotnej korelacji między polimorfizmem genów kodujących receptor adrenergiczny β_3 z częstością wystąpienia jadłowstrętu psychicznego^{153 154}.

IV. CEL PRACY

Celem pracy jest ocena dysfunkcji osi podwzgórze-przysadka-jajnik w oparciu o analizę stężeń neurohormonów podwzgórza, gonadotropin wydzielanych w przysadce oraz hormonów peptydowych i steroidowych jajnika u kobiet z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jądłowstrętem psychicznym.

Cel pracy realizowany jest poprzez oznaczenie i ocenę stężeń w surowicy krwi substancji wydzielanych przez:

A) podwzgórze:

- kortykoliberyna (CRH),

- kisspeptyna;

B) przysadkę:

- gonadotropiny:

- folikulotropina (FSH),

- lutropina (LH),

- prolaktyna,

C) jajnik:

- białka nadrodziny transformującego czynnika wzrostu typu β :

- inhibina B,

- inhibina całkowita,

- hormony steroidowe:

- estradiol,

- testosteron,

u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym.

Analizowane będą zależności pomiędzy poszczególnymi parametrami klinicznymi oraz hormonalnymi u pacjentek z grupy badanej i grupy kontrolnej.

Celem przedstawianego badania jest ocena roli CRH, kisspeptyny, inhibiny B i inhibiny całkowitej w etiopatogenezie czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki i jadłowstrętu psychicznego.

W szczególności, badanie to, pozwoli na:

- ocenę podstawowych stężeń oznaczanych peptydów u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym, w porównaniu do grupy kobiet zdrowych;
- skorelowanie odchyleń dotyczących poszczególnych peptydów (CRH, kisspeptyny, inhibiny B, inhibiny całkowitej) z wydzielaniem hormonów przysadkowych (LH, FSH, prolaktyny) ze wskaźnikami czynności jajników (inhibiny B, inhibiny całkowitej, estradiolu) w opisywanej grupie badanej i grupie kontrolnej;
- ocenę różnic w profilu neurohormonalnym w zależności od etiologii podwzgórzowego braku miesiączki (czynnościowy, a związany z jadłowstrętem psychicznym).

Praca realizowana jest w ramach Grantu Promotorskiego KBN nr N N407 53 6739.

V. MATERIAŁ

Do badania zakwalifikowano 56 kobiet w wieku od 17 do 28 lat hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Wszystkie pacjentki zostały dokładnie poinformowane o badaniach i podpisały świadomą zgodę na udział w nich. U każdej z pacjentek rozpoznano czynnościowym podwzgórzowy brak miesiączki, a u 15 z nich jadłowstręt psychiczny.

Pacjentki zakwalifikowano do dwóch grup klinicznych:

* I grupę stanowiło 15 pacjentek, u których rozpoznano jadłowstręt psychiczny. Rozpoznanie postawiono w oparciu o kryteria diagnostyczne Klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrii z 1994 roku (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV) ⁷²:

- brak akceptacji psychicznej utrzymania masy ciała na poziomie minimum normy odpowiedniej dla wieku i wzrostu (utrata masy ciała prowadząca do stanu poniżej 85% masy należnej lub niemożność przyrostu masy ciała w okresie wzrostu do 85% masy należnej),
- stała obawa przed wzrostem masy ciała lub otyłością, nawet w razie niedowagi,
- zaburzenie w samoocenie dotyczące masy i wyglądu ciała; prawidłowa masa ciała jest postrzegana jako nadmierna, a niska masa ciała jako prawidłowa,
- u osób wcześniej miesiączkujących występuje wtórny brak miesiączki.

* II grupę stanowiło 41 pacjentek z rozpoznaniem czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki, uwarunkowanego utratą masy ciała, bez współistnienia zaburzeń odżywiania. Kobiety spełniały następujące kryteria:

- rozpoznanie wtórnego braku miesiączki, określanego jako brak miesiączki przez okres dłuższy niż 90 dni, niezwiązany z ciążą ⁵⁸,
- obniżone stężenie LH w surowicy krwi (<5 mIU/ml) ¹⁵⁵.

Kryteria wykluczenia dla I i II grupy badanej to:

- urazy czaszkowo-mózgowe, zespół Sheehana lub inny zespół przebiegający z hipopituitaryzmem w wywiadzie;

- zaburzenia miesiączkowania o innej etiologii niż podwzgórzowa (hiperprolaktynemia, niedoczynność/nadczynność tarczycy, zespół policystycznych jajników) ¹⁵⁶;
- stwierdzone w wywiadzie lub badaniu ginekologicznym bądź ultrasonograficznym narządu rodnego, nieprawidłowości morfologiczne w obrębie układu rozrodczego, które mogą być przyczyną pierwotnego lub wtórnego braku miesiączki.

Grupa kontrolna obejmowała 40 pacjentek, które trafiły do Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej celem diagnostyki z powodu niepłodności pierwotnej lub wtórnej. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano kobiety, według następujących kryteriów:

- wiek od 23 do 31 lat,
- regularne cykle miesiączkowe (miesiączki co 28 ± 4 dni) przez ostatnie 12 miesięcy,
- prawidłowa masa ciała (BMI- body mass index – wskaźnik masy ciała: w granicach $18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$) i bez epizodów odchudzania się w wywiadzie przez ostatnie 12 miesięcy,
- brak zaburzeń w zakresie funkcji tarczycy i nadnerczy,
- brak stosowania leków hormonalnych w ciągu ostatnich 6 miesięcy.

Każda z badanych pacjentek została poinformowana o charakterze badania i wyraziła pisemną, świadomą zgodę na udział w nim.

Uzyskano także zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu na przeprowadzenie wyżej wymienionego badania (uchwała nr 982/07).

VI. METODYKA

Pacjentki grupy badanej i kontrolnej (96 kobiet) były hospitalizowane w Katedrze i Klinice Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. U wszystkich kobiet przeprowadzono badanie podmiotowe. Badanie to obejmowało uzyskanie następujących informacji: wiek wystąpienia pierwszej miesiączki, wiek wystąpienia braku miesiączki, czas trwania braku miesiączki, spadek masy ciała w kilogramach, czas trwania odchudzania, wiek rozpoznania jadłowstrętu psychicznego, ewentualna hospitalizacja, zastosowane leczenie, wystąpienie w przeszłości silnego stresu lub znacznego wysiłku fizycznego, przeszłość położnicza, choroby przewlekłe, przyjmowane leki, dotychczasowe leczenia hormonalne, przebyte operacje, uczulenia na leki oraz wywiad rodzinny.

Ponadto, u wszystkich pacjentek przeprowadzono badanie przedmiotowe, obejmujące:

- masę ciała, wzrost;
- obliczenie wskaźnika masy ciała - BMI (Body Mass Index) [kg/m^2]. Zgodnie z obowiązującymi kryteriami przyjęto następujące przedziały wartości BMI: 18,5-24,9 kg/m^2 : norma, 25-29,9 kg/m^2 : nadwaga, 30-39,9 kg/m^2 : otyłość, $>40 \text{ kg}/\text{m}^2$: otyłość ogromna.
- badanie ginekologiczne,
- badanie ultrasonograficzne narządu rodowego sondą dopochwową aparatu Aloka Prosound Alpha 6.

Celem wykonania badań hormonalnych, u każdej pacjentki została pobrana krew z żyły łokciowej do suchej, plastikowej probówki w godzinach rannych, a pacjentki pozostawały na czczo (8-10 godzin). W grupie kontrolnej krew pobierana była w fazie folikularnej, około 11-13 dnia cyklu.

Badanie surowic krwi pacjentek zostało przeprowadzone metodą immunoenzymatyczną (ELISA– enzyme-linked immunosorbent assay). Oznaczono stężenia CRH, kisspeptyny, inhibiny B, inhibiny całkowitej, FSH, LH, estradiolu, prolaktyny, testosteronu w surowicy krwi pacjentek z grupy badanej i kontrolnej.

Badania laboratoryjne zostały wykonane w Pracowni Immunodiagnostycznej i Radioimmunologicznej Centralnego Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UM w Poznaniu – Kierownik Laboratorium: Dr n. farm. Marek Chuchracki oraz w Laboratorium Kliniki Położnictwa i Ginekologii Uniwersytetu w Sienie we Włoszech prowadzonym przez Profesora Felice Petraglia.

Oznaczenia stężeń CRH w surowicy krwi wykonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla CRH: 0,33 – 3,73 ng/ml,
- czułość testu: 0,33 ng/ml.

Oznaczenia stężeń kisspeptyny w surowicy krwi wykonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla kisspeptyny: 0 - 25 ng/ml,
- czułość testu: 0,8 ng/ml.

Oznaczenia stężeń inhibiny B w surowicy krwi dokonano za pomocą testu podwójnego wiązania – sandwich ELISA (OBI Inhibin B ELISA, MCA1312KZZ; OBI-DSL Ltd, Oxon, UK),

- czułość testu: 1,5 pg/ml,
- współczynniki zmienności: <6%, <7%.

Oznaczenia stężeń inhibiny całkowitej dokonano za pomocą testu podwójnego wiązania – sandwich ELISA (Diagnostic System Laboratories/Oxford Bio Innovation, Oxford, UK),

- czułość testu: 2,5 pg/ml,
- współczynniki zmienności: 7,9%, <8,6%.

Oznaczenia stężeń FSH dokonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla FSH:
 - faza folikularna: 3,5 – 12,5 mIU/ml;
 - faza owulacyjna: 4,7 – 21,5 mIU/ml;

- faza lutealna: 1,7 – 7,7 mIU/ml;

- czułość testu: 0,1 mIU/ml.

Oznaczenia stężeń LH dokonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla LH:

- faza folikularna: 2,4 – 12,6 mIU/ml;
- faza owulacyjna: 14,9 – 95,6 mIU/ml;
- faza lutealna: 1,0 – 11,4 mIU/ml;

- czułość testu: 0,1 mIU/ml.

Oznaczenia stężeń estradiolu dokonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla estradiolu:

- faza folikularna: 12,5 – 166 pg/ml;
- faza owulacyjna: 85,8 – 498 pg/ml;
- faza lutealna: 43,8 – 211 pg/ml;

- czułość testu: 5 pg/ml.

Oznaczenia stężeń prolaktyny dokonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla prolaktyny: 6 – 29,9 ng/ml,

- czułość testu: 0,47 ng/ml.

Oznaczenia stężeń testosteronu dokonano za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics,

- wartości referencyjne dla testosteronu: 0,06 – 0,86 ng/ml,

- czułość testu: 0,02 ng/ml.

VII. ANALIZA STATYSTYCZNA

Parametry mierzalne takie jak stężenia hormonów CRH, kisspeptyny, inhibiny B, inhibiny całkowitej, FSH, LH, estradiolu, prolaktyny i testosteronu opisano średnią arytmetyczną i odchyleniem standardowym, me-dianą, pomiarem minimalnym i maksymalnym. Sprawdzone zgodność z rozkładem normalnym testem Shapiro-Wilka. Dla prób zgodnych z rozkładem normalnym do porównania między analizowanymi grupami jadłowstręt psychiczny (AN), czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki (HA) i grupa kontrolna (K) zastosowano analizę wariancji ANOVA z testem post-hoc Tukeya. Gdy nie potwierdzono zgodności z rozkładem normalnym zastosowano test nieparametryczny Kruskala-Wallisa z testem wielokrotnych porównań Dunna. Dla porównania między dwoma grupami zastosowano test t-Studenta dla prób niezależnych, gdy była zgodność z rozkładem normalnym, w przeciwnym wypadku test nieparametryczny Manna-Whitney'a.

Zależność między parametrami badano wyznaczając współczynnik korelacji Pearsona (po potwierdzeniu zgodności z rozkładem normalnym) lub współczynnik korelacji nieparametrycznej Spearmana.

Obliczenia wykonano przy pomocy pakietu statystycznego STATISTICA (data analysis software system), v. 8.0.

Analizę statystyczną przeprowadzono w Zakładzie Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

VIII. WYNIKI BADAŃ

Uzyskane wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w formie tabel (1-2) oraz rycin (1-22).

W tabelach przedstawiono charakterystykę kliniczną oraz porównanie poszczególnych parametrów w obrębie badanych grup pacjentek.

Wyniki badań przedstawione są w postaci:

- wartości średnich z odchyleniami standardowymi,
- mediany (Me),
- wartości minimalnych (Min) i maksymalnych (Max).

Na wykresach przedstawiono różnice oraz wzajemne zależności między wybranymi parametrami w poszczególnych grupach pacjentek.

Tabela I. Charakterystyka kliniczna kobiet w grupie badanej (I - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego - AN, II - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki - FHA) i w grupie kontrolnej - K (III).

Parametry kliniczne	I Jadłowstręt psychiczny (AN) (n=15) Wiek (lata) 20,6 ±2,75	II Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki (FHA) (n= 41) Wiek (lata) 23,3 ±5,23	III Grupa kontrolna (K) (n= 40) Wiek (lata) 27,1 ±4,01	Wartość p
Masa ciała (kg)	45,0±7,56 Me=43,0 Min-Max:33,4-63,0	51,9±7,28 Me=51,3 Min-Max:38,5-74,0	61,1±7,20 Me=60,0 Min-Max:48,0-81,0	Test ANOVA: p=0,00001 I v. II p=0,0309 I v. III p=0,0001 II v. III p=0,0001
Wzrost (cm)	163,3±6,99 Me=163,0 Min-Max:150,0-176,0	165,5±5,62 Me=166,0 Min-Max:153,0-176,0	167,7±6,56 Me=168 Min-Max:154,0-183,0	Test ANOVA: p=0,0514 I v. II p=0,6021 I v. III p=0,1324 II v. III p=0,2504
BMI (Body mass index) (kg/m ²)	16,8 ± 1,85 Me=16,3 Min-Max:14,7-20,8	18,9 ± 2,50 Me=18,6 Min-Max:15,0-27,5	21,7 ± 2,12 Me=21,4 Min-Max: 18,1-27,8	Test K-W: p=0,00001 I v. II p=0,0501 I v. III p<0,0001 II v. III p<0,0001
wiek wystąpienia pierwszej miesiączki (r. ż.)	13,4 ± 1,64 Me=13,0 Min-Max: 11,0-17,0	13,6 ± 1,84 Me=13,0 Min-Max: 10,0-17,0	12,8± 1,4 Me=13,0 Min-Max:11,0-16,0	Test K-W: p=0,2159 I v. II p=1,0 I v. III p=0,9825 II v. III p=0,2805
wiek wystąpienia braku miesiączki (r. ż.)	16,5 ± 0,92 Me=17,0 Min-Max:15,0-18,0	18,7 ± 4,08 Me=18,0 Min-Max:12,0-31,0		Test M-W: p=0,0981
czas trwania braku miesiączki	35,4 ± 30,58 Me=36,0 Min-Max:3,0-120,0	37,4 ± 41,63 Me=20,0 Min-Max:3,0-192,0		Test M-W: p=0,7041

(miesiące)				
spadek masy ciała (kg)	15,6 ± 4,71 Me=16,0 Min-Max:5,0-20,0	7,8 ± 5,88 Me:7,0 Min-Max:0-21,0		Test M-W: p=0,0002
czas trwania odchudzenia się (miesiące)	6,4 ± 3,92 Me=6,0 Min-Max:2,0-18,0	7,6 ± 8,17 Me=6,0 Min-Max:0-36,0		Test M-W: p=0,7495

Test K-W - test nieparametryczny Kruskala-Wallis

Test M-W - test nieparametryczny Manna-Whitney'a

Tabela I. przedstawia poszczególne parametry kliniczne oraz poziomy ich istotności statystycznej u pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i u kobiet z grupy kontrolnej.

Wśród analizowanych parametrów klinicznych znalazły się masa ciała i wzrost, wartości BMI, wiek wystąpienia pierwszej miesiączki, wiek wystąpienia braku miesiączki, czas trwania braku miesiączki, spadek masy ciała oraz czas trwania odchudzenia się.

Średnia masa ciała pacjentek z rozpoznaniem AN wynosiła 45,0±7,56 kg i była istotnie statystycznie niższa w porównaniu z pacjentkami z FHA (p=0,0309) oraz w porównaniu z kobietami w grupie kontrolnej (p=0,0001). Średnia masa ciała u pacjentek z FHA wynosiła 51,9±7,28 kg i była statystycznie niższa niż u kobiet z grupy kontrolnej (p=0,0001). Pacjentki z grupy kontrolnej charakteryzowały się średnią masą ciała 61,1±7,20 kg.

W tabeli I. opisany został wzrost badanych pacjentek. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi wartościami (p=0,0514). Średni wzrost pacjentek z AN wynosił 163,3±6,99 cm, u pacjentek z FHA 165,5±5,62 cm, a w grupie kontrolnej 167,7±6,6 cm. Wartości p wynosiły odpowiednio p= 0,6021, p=0,1324, p=0,2504 porównując grupy z AN a grupą z FHA, grupy z AN a grupą K oraz grupy z FHA a grupą K.

Średnie wartości BMI w grupie pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym wynosiły 16,8 ± 1,85 kg/m², stanowiąc najniższe wartości spośród wszystkich

badanych grup, jednak nie różniły się istotnie statystycznie z wartościami BMI u kobiet z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki ($p=0,0501$). Wartości BMI u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym były istotnie statystycznie niższe w stosunku do wartości BMI w grupie kontrolnej ($p=0,0001$). Średnie wartości BMI u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki wynosiły $18,9 \pm 2,50$ (kg/m^2) i były istotnie statystycznie niższe w porównaniu ze średnimi wartościami u pacjentek z grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Średnie wartości BMI u kobiet zdrowych wynosiły $21,7 \pm 2,12$ (kg/m^2).

Kolejnym ocenianym parametrem w badaniu, był wiek wystąpienia pierwszej miesiączki. Pacjentki, u których rozpoznano jadłowstręt psychiczny pierwsza miesiączka wystąpiła w $13,4 \pm 1,64$ roku życia. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wieku wystąpienia pierwszej miesiączki pomiędzy poszczególnymi grupami ($p=0,2159$). Średni wiek wystąpienia pierwszej miesiączki u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki wynosił $13,6 \pm 1,84$, a u kobiet z grupy badanej $12,3 \pm 1,45$. Wartości p wynosiły odpowiednio: $p=1,0$, $p=0,9825$, $p=0,2805$, porównując grupy z AN a grupą z FHA, grupy z AN a grupą K oraz grupy z FHA a grupą K.

Analiza statystyczna objęła również dane dotyczące wieku pacjentek, w którym wystąpił brak miesiączki. W grupie pacjentek z AN wynosił $16,5 \pm 0,92$ lat. Wtórny brak miesiączki u pacjentek z FHA wystąpił później, bo w wieku $18,7 \pm 4,1$ w porównaniu z pacjentkami z AN. Jednak różnice te nie były istotne statystycznie ($p=0,0981$).

Przeprowadzane badanie podmiotowe dostarczyło istotnych informacji dotyczących także czasu trwania braku miesiączki wyrażonego w miesiącach. Pacjentki z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym charakteryzowały się co ciekawe krótszym niż pacjentki z FHA okresem trwania braku miesiączki. Średni czas trwania braku miesiączki u pacjentek z AN wynosił $35,4 \pm 30,58$ miesięcy, natomiast u pacjentek z FHA $37,4 \pm 41,63$ miesięcy. Jednak różnice te nie były istotne statystycznie ($p=0,7041$).

Natomiast, istotnie statystycznie większy był spadek masy ciała u pacjentek z rozpoznaniem AN w porównaniu z pacjentkami z FHA i wynosił odpowiednio $15,6 \pm 4,71$ kg oraz $7,8 \pm 5,88$ kg ($p=0,0002$).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy czasem trwania spadku masy ciała wśród pacjentek z AN w porównaniu z pacjentkami z FHA ($p=0,7495$). Średni czas trwania spadku masy ciała wyrażony w miesiącach u pacjentek AN wynosił $6,4 \pm 3,92$, a u pacjentek z FHA był nieistotnie dłuższy i wynosił $7,6 \pm 8,17$ miesięcy.

Tabela II. Wartości poszczególnych parametrów hormonalnych (CRH, kisspeptyna, inhibina B, inhibina całkowita, FSH, LH, estradiol, prolaktyna, testosteron) w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (I - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, II - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (III).

Hormony	I Jadłowstręt psychiczny (AN) (n=15)	II Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki (FHA) (n=41)	III Grupa kontrolna (K) (n=40)	Wartość p
CRH (ng/ml)	5,40 ± 2,312 Me:4,84 Min-Max:2,29- 11,50	3,82 ± 2,446 Me:2,86 Min-Max:1,69- 13,51	2,51 ± 1,273 Me:2,17 Min-Max:0,86-6,85	Test K-W: p=0,0001 I v. II p=0,0288 I v. III p=0,0001 II v. III p=0,0028
Kisspeptyna (ng/ml)	0,20 ± 0,07 Me:0,2 Min-Max:0,1-0,40	0,17 ± 0,11 Me: 0,1 Min-Max:0,01-0,6	0,3 ± 0,36 Me:0,2 Min-Max:0,1-2,4	Test K-W: p=0,757 Test M-W:* I v. II p=0,212 I v. III p=0,712 II v. III p=0,0271
Inhibina B (pg/ml)	50,7 ± 32,54 Me: 48,7 Min-Max: 10,5- 103,8	39,4 ± 26,84 Me: 32,3 Min-Max: 10,0- 123,8	78,5 ± 33,25 Me: 73,3 Min-Max: 30,0- 206,3	Test K-W: p=0,00001 I v. II p=0,61 I v. III p=0,0178 II v. III p=0,0001
Inhibina całkowita (pg/ml)	61,5 ± 27,88 Me: 64,2 Min-Max:26,7- 111,0	37,8 ± 23,83 Me:32,2 Min-Max:3,2-94,3	84,0 ± 23,85 Me:81,4 Min-Max:38,4- 140,9	Test K-W: p=0,00001 I v. II p=0,0284 I v. III p=0,091 II v. III p=0,0001

FSH (mIU/ml)	5,5 ± 1,82 Me = 5,4 Min-Max: 2,1 – 8,8	5,1 ± 1,84 Me = 4,8 Min-Max: 1,7–9,7	7,0 ± 2,54 Me = 6,3 Min-Max: 2,9-14,2	Test K-W: p=0,0015 I v. II p=1,0 I v. III p=0,2492 II v. III p=0,001
LH (mIU/ml)	2,5 ± 1,71 Me = 2,5 Min-Max: 0,1–2,5	2,9 ± 2,58 Me: 2,3 Min-Max: 0,1-12,5	13,5 ± 9,73 Me: 10,2 Min-Max: 4,0-48,8	Test K-W: p=0,00001 I v. II p = 1,0 I v. III p=0,0001 II v. III p=0,0001
Estradiol (pg/ml)	31,0 ± 15,3 Me: 26 Min-Max: 13-54	29,0 ± 14,8 Me: 25 Min-Max: 7-72	129,0 ± 107,7 Me: 84 Min-Max: 34-427	Test K-W: p=0,00001 I v. II p=1,0 I v. III p=0,0001 II v. III p=0,0001
Prolaktyna (ng/ml)	10,19 ± 6,521 Me: 8,08 Min-Max: 4,05- 27,06	9,93 ± 6,020 Me: 8,34 Min-Max: 3,91- 32,99	15,22 ± 6,229 Me: 14,46 Min-Max: 3,51- 33,38	Test K-W: p=0,00001 I v. II p=1,0 I v. III p=0,0074 II v. III p=0,0001
Testosteron (ng/ml)	0,43 ± 0,215 Me: 0,48 Min-Max: 0,13-0,81	0,51 ± 0,715 Me: 0,38 Min-Max: 0,04-4,7	0,40 ± 0,144 Me: 0,37 Min-Max: 0,14-0,70	Test K-W: p=0,9142 I v. II p=1,0 I v. III p=1,0 II v. III p=1,0

Test K-W - test nieparametryczny Kruskala-Wallis

Test M-W - test nieparametryczny Manna-Whitney'a

*Ze względu na to, iż kisspeptyna była bardzo istotnym elementem pracy, mimo nieistotności testu K-W, zbadano różnicę testem M-W, żeby stwierdzić czy istnieją istotne statystycznie różnice porównując wszystkie grupy oddzielnie.

Tabela II. przedstawia średnie wartości stężeń hormonów w surowicy krwi u pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym, czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki oraz u kobiet z grupy kontrolnej.

Tabela II. przedstawia średnie stężenia CRH w surowicy krwi w poszczególnych grupach badanych oraz istniejące zależności ($p=0,0001$). Istnieje istotna statystycznie różnica pomiędzy stężeniami CRH w surowicy krwi u pacjentek z rozpoznaniem AN w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdza się istotnie statystycznie wyższe stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0001$). Średnie stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $5,40 \pm 2,312$ ng/ml, a w grupie kontrolnej wynosiły $2,51 \pm 1,273$ ng/ml. Ponadto stwierdza się istotnie statystycznie wyższe stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z pacjentkami z FHA ($p=0,0028$). Średnie stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiły $3,82 \pm 2,446$ ng/ml i były istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0028$).

Średnie stężenia kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $0,20 \pm 0,07$ ng/ml, w grupie z FHA wynosiły $0,17 \pm 0,11$ ng/ml, natomiast u kobiet z grupy kontrolnej wynosiły $0,3 \pm 0,36$ ng/ml. Analizując wyniki za pomocą testu Kruskala-Wallisa i porównując wszystkie trzy grupy jednocześnie, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi grupami ($p=0,757$). Jednak na uwagę zasługuje fakt, iż analizując poszczególne grupy osobno względem siebie testem Manna-Whitneya, zaobserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy średnimi stężeniami kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z FHA a grupą kontrolną ($p=0,0271$). Stwierdza się, iż stężenia kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną są istotnie statystycznie niższe.

Kolejnym parametrem umieszczonym w tabeli II. są średnie stężenia inhibiny B w surowicy krwi w poszczególnych grupach ($p=0,00001$). Nie stwierdza się istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z pacjentkami z FHA ($p=0,61$). Jednak, stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0178$). Średnie stężenia inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $50,7 \pm 32,54$ pg/ml, a w grupie kontrolnej wynosiły $78,5 \pm 33,25$ pg/ml. Istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny B w surowicy krwi stwierdzono u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0001$). Średnie stężenia inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiły $39,4 \pm 26,84$ pg/ml.

Kolejnym analizowanym w tabeli II. parametrem w surowicy krwi u pacjentek we wszystkich grupach badanych była inhibina całkowita ($p=0,00001$). Średnie stężenia

inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $61,5 \pm 27,88$ pg/ml i były istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z pacjentkami z FHA ($p=0,0284$). Nie stwierdza się istotnej statystycznie różnicy pomiędzy stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej ($p=0,091$). Średnie stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiły $37,8 \pm 23,83$ pg/ml i były istotnie statystycznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0001$). Średnie stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z grupy kontrolnej wynosiły $84,0 \pm 23,85$ pg/ml.

Kolejnym parametrem ocenianym w tabeli II. są średnie stężenia FSH w surowicy krwi u wszystkich pacjentek ($p=0,0015$). Nie stwierdza się istotnej statystycznie różnicy w stężeniach FSH w surowicy krwi u pacjentek z rozpoznaniem AN a pacjentkami z FHA ($p=1,0$) oraz w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej ($p=0,2492$). U pacjentek z AN stężenie FSH w surowicy krwi wynosiło $5,5 \pm 1,82$ mIU/ml. W zakresie stężeń FSH w surowicy krwi stwierdza się istotną statystycznie różnicę pomiędzy stężeniami FSH w surowicy krwi u pacjentek z rozpoznaniem FHA w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenie FSH w surowicy krwi u pacjentek z rozpoznaniem FHA jest istotnie statystycznie niższe niż u pacjentek z grupy kontrolnej ($p=0,001$). Średnie stężenie FSH w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiło $5,1 \pm 1,84$ mIU/ml, a u pacjentek w grupie kontrolnej $7,0 \pm 2,54$ mIU/ml.

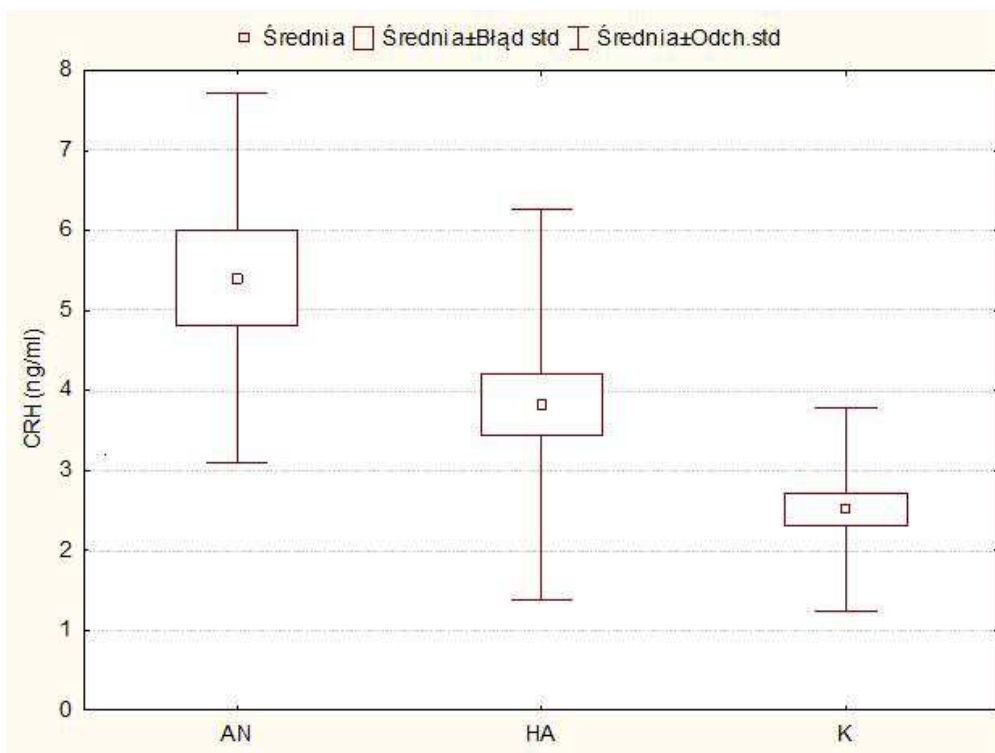
Kolejnym parametrem umieszczonym w tabeli II. i analizowanym w pracy było stężenie LH w surowicy krwi u pacjentek w grupach badanych ($p=0,00001$). Stężenia LH w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiły $2,9 \pm 2,58$ mIU/ml i co zwraca uwagę, nie były istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z pacjentkami z AN ($p=1,0$). Stężenia LH w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $2,5 \pm 1,71$ mIU/ml. Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia LH w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Średnie stężenie LH w surowicy krwi u pacjentek w grupie kontrolnej wynosiło $13,5 \pm 9,73$ mIU/ml. Wykazano istotnie statystycznie niższe wartości LH w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0001$).

Tabela II. zawiera również wyniki stężenia estradiolu w surowicy krwi u wszystkich pacjentek z grupy badanej i kontrolnej ($p=0,00001$). Na uwagę zasługuje jednak fakt, iż średnie stężenia estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z AN były niższe niż u pacjentek z FHA, jednak nie wykazano istotnych statystycznie różnic

między tymi grupami pacjentek ($p=1,0$). Średnie stężenia estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $31,0 \pm 15,3$ pg/ml i były istotnie statystycznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0001$). Pacjentki z FHA charakteryzowały się istotnie niższymi wartościami estradiolu w surowicy krwi w porównaniu z kobietami zdrowymi ($p=0,0001$). Średnie stężenia estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiły $29,0 \pm 14,8$ pg/ml, a w grupie kontrolnej $129,0 \pm 107,7$ pg/ml.

Kolejnym hormonem ujętym w tabeli II. jest prolaktyna ($p=0,00001$). Średnie stężenia prolaktyny w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiły $10,19 \pm 6,521$ ng/ml i nie różniły się statystycznie w porównaniu z kobietami z FHA ($p=1,0$). Były natomiast istotnie statystycznie niższe w porównaniu z kobietami zdrowymi ($p=0,0074$). Istotne statystycznie różnice w zakresie stężeń prolaktyny w surowicy krwi zarejestrowano również w grupie pacjentek z FHA w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej. Średnie stężenia prolaktyny w surowicy krwi u pacjentek z FHA wynosiły $9,93 \pm 6,020$ ng/ml i były istotnie statystycznie niższe niż u pacjentek z grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Średnie stężenia prolaktyny w surowicy krwi u kobiet zdrowych wynosiły $15,22 \pm 6,229$ ng/ml.

W zakresie średnich stężeń testosteronu w surowicy krwi u wszystkich badanych pacjentek nie zarejestrowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi grupami ($p=0,9142$). Średnie stężenie testosteronu w surowicy krwi u pacjentek z AN wynosiło $0,43 \pm 0,215$ ng/ml i nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w porównaniu z pacjentami z FHA ($p=1,0$), podobnie w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej ($p=1,0$). Pacjentki z FHA charakteryzowały się wartościami testosteronu $0,51 \pm 0,715$ ng/ml i nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w porównaniu z grupą kontrolną ($p=1,0$). Średnie stężenia testosteronu w surowicy krwi u pacjentek w grupie kontrolnej wynosiły $0,40 \pm 0,144$ ng/ml.

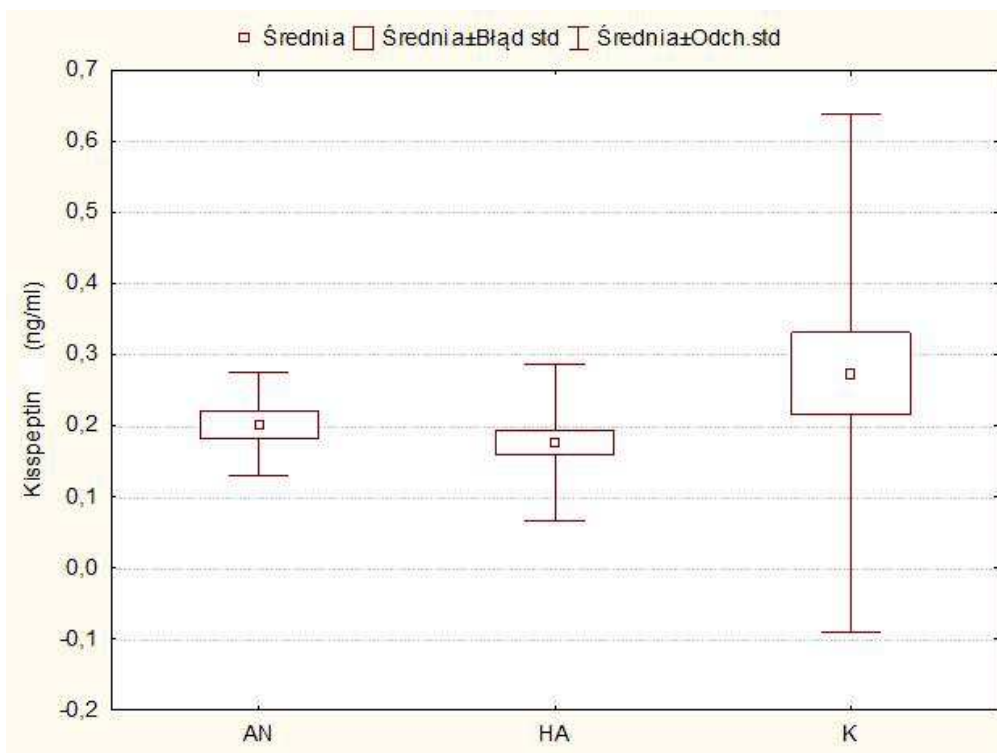


Rycina 1. Średnie stężenia kortykoliberyny (CRH) w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach CRH w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym i grupą kobiet z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki ($p=0,0288$). Stwierdza się istotnie statystycznie wyższe stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z pacjentkami z FHA.

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach CRH w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym i kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Stwierdza się istotnie statystycznie wyższe stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z grupą kontrolną.

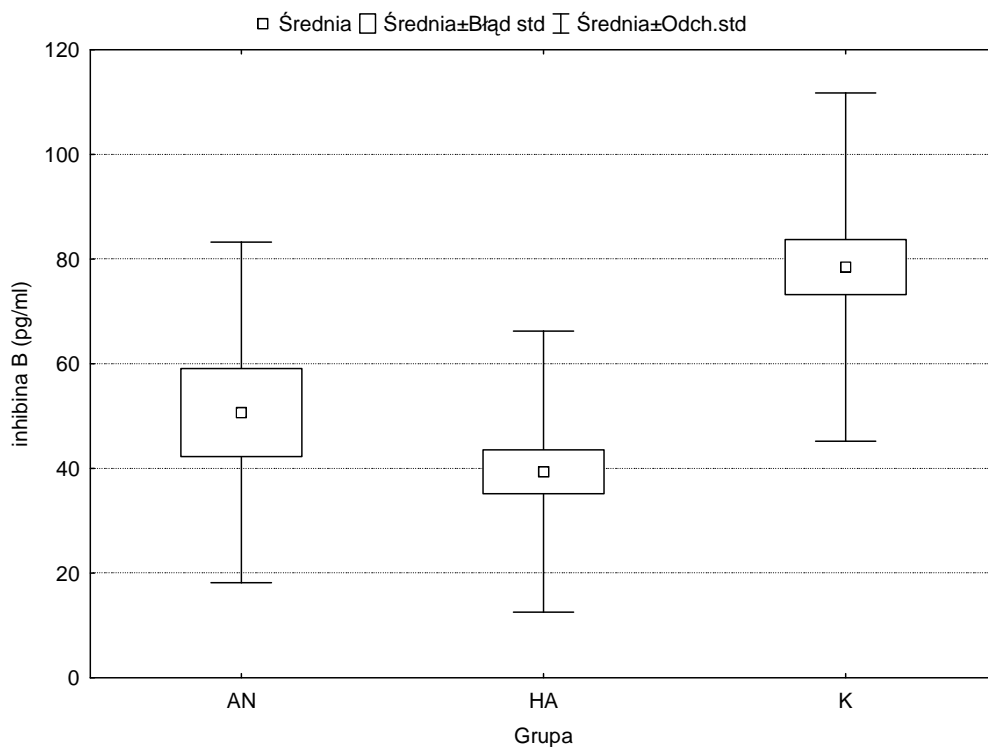
Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach CRH w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0028$). Stwierdza się istotnie statystycznie wyższe stężenia CRH w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną.



Rycina 2. Średnie stężenia kisspeptyny w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jądłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

Analizując wyniki za pomocą testu Kruskala-Wallisa i porównując wszystkie trzy grupy jednocześnie, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi grupami.

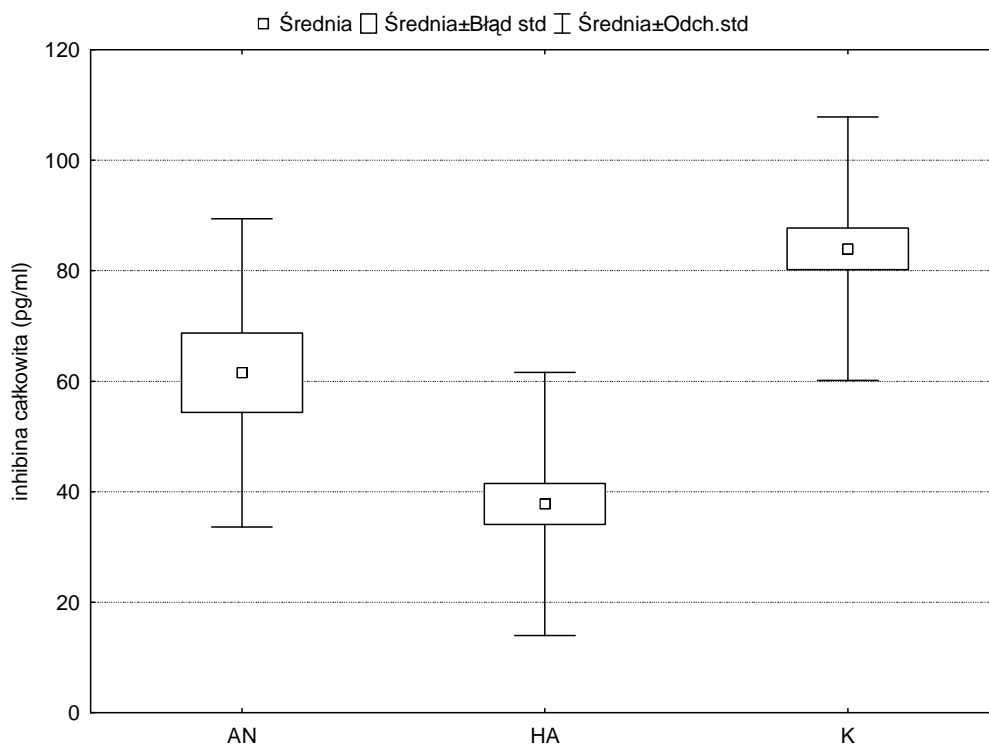
Jednak na uwagę zasługuje fakt, iż analizując poszczególne grupy osobno względem siebie testem Manna-Whitneya, zaobserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy średnimi stężeniami kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z FHA i grupą kontrolną ($p=0,0271$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną.



Rycina 3. Średnie stężenia inhibiny B w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach inhibiny B w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0178$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z grupą kontrolną.

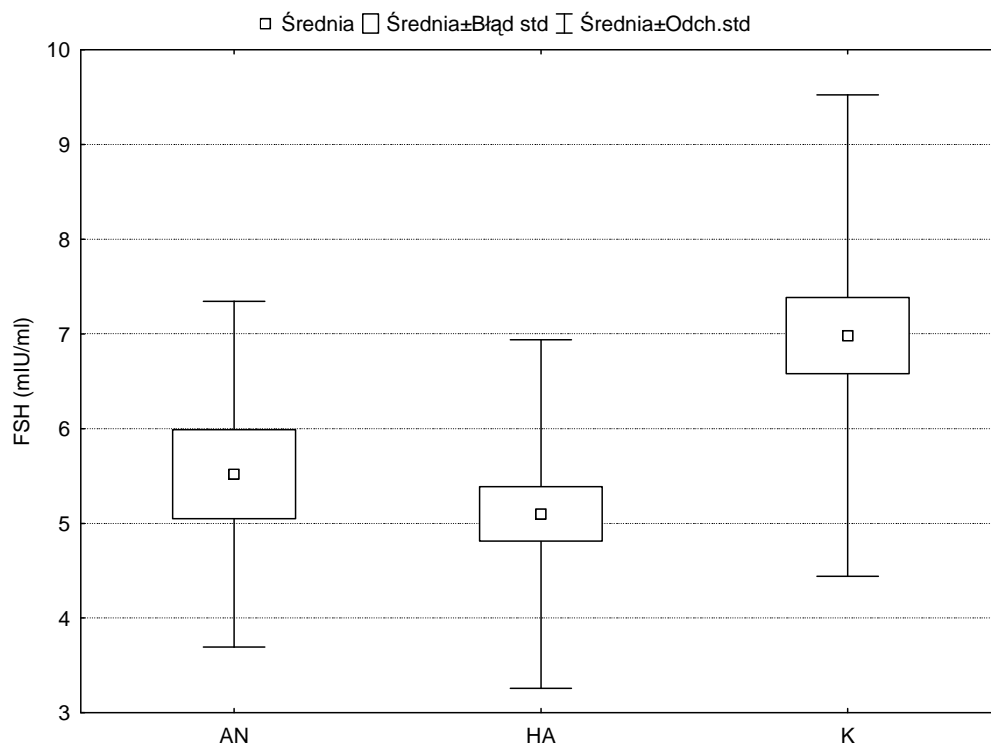
Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach inhibiny B w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną.



Rycina 4. Średnie stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

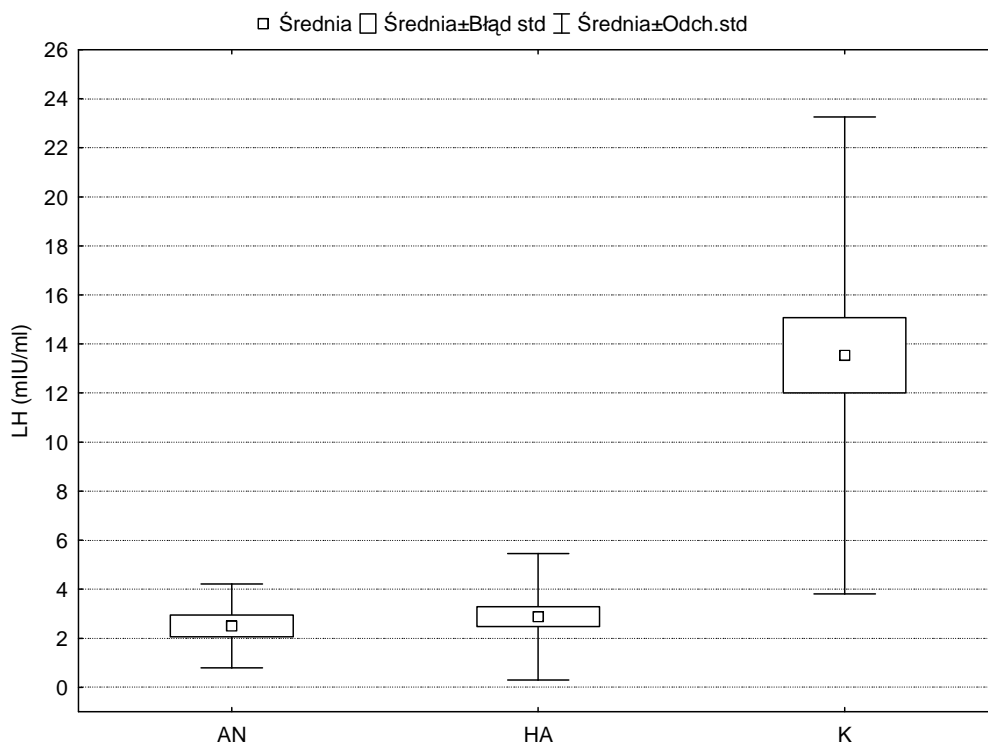
Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach inhibiny całkowitej w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i grupą kobiet z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki ($p=0,0284$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z pacjentkami z AN.

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach inhibiny całkowitej w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną.



Rycina 5. Średnie stężenia FSH w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jądłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

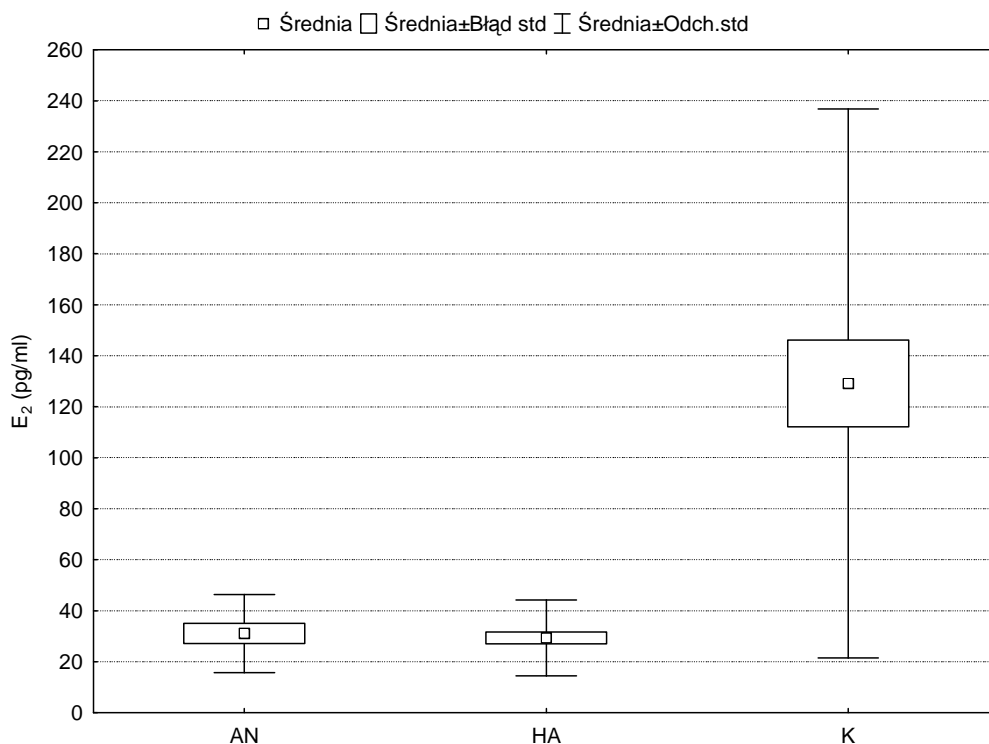
Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach FSH w surowicy krwi pomiędzy grupą pacjentek z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i grupą kontrolną ($p=0,001$). Stężenia FSH w surowicy krwi u pacjentek z FHA były istotnie statystycznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną.



Rycina 6. Średnie stężenia LH w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach LH w surowicy krwi pomiędzy grupą pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i grupą kontrolną ($p=0,0001$). Stężenia LH w surowicy krwi u pacjentek z AN były istotnie statystycznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną.

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach LH w surowicy krwi pomiędzy grupą pacjentek z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i grupą kontrolną ($p=0,0001$). Stężenia LH w surowicy krwi u pacjentek z FHA były istotnie statystycznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną.

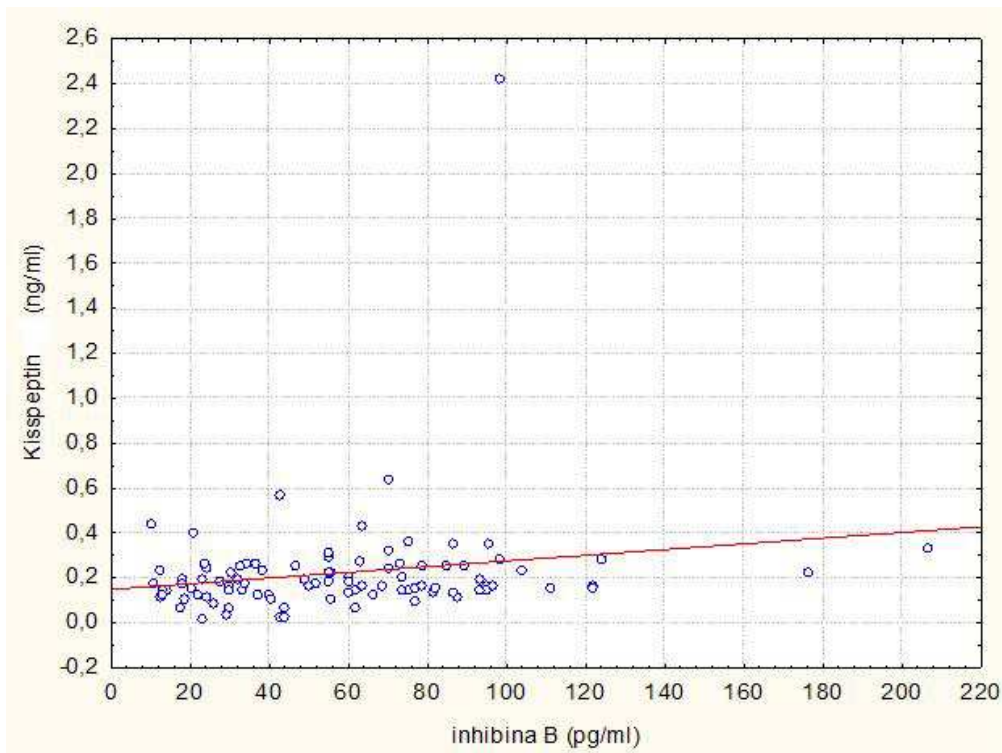


Rycina 7. Średnie stężenia estradiolu w surowicy krwi kobiet w grupie badanej (AN - z roz-poznaniem jadłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej (K).

Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach estradiolu w surowicy krwi pomiędzy grupą pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym i grupą kontrolną ($p=0,0001$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z grupą kontrolną.

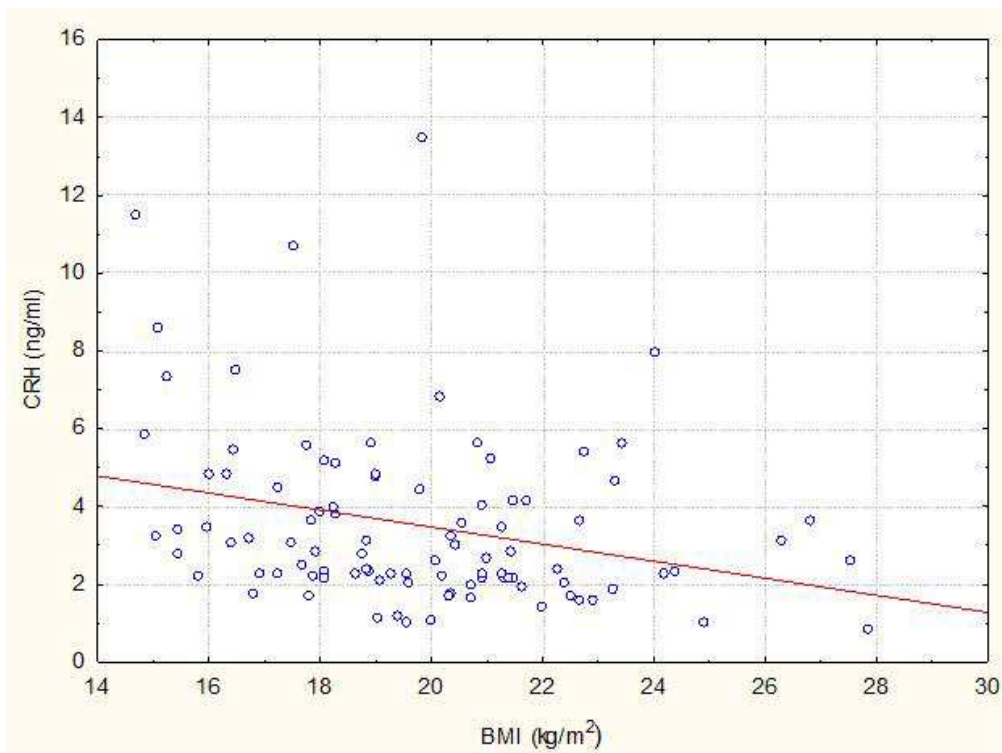
Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach estradiolu w surowicy krwi pomiędzy grupą pacjentek z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i grupą kontrolną ($p=0,0001$). Stwierdza się istotnie statystycznie niższe stężenia estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną.

Korelacje



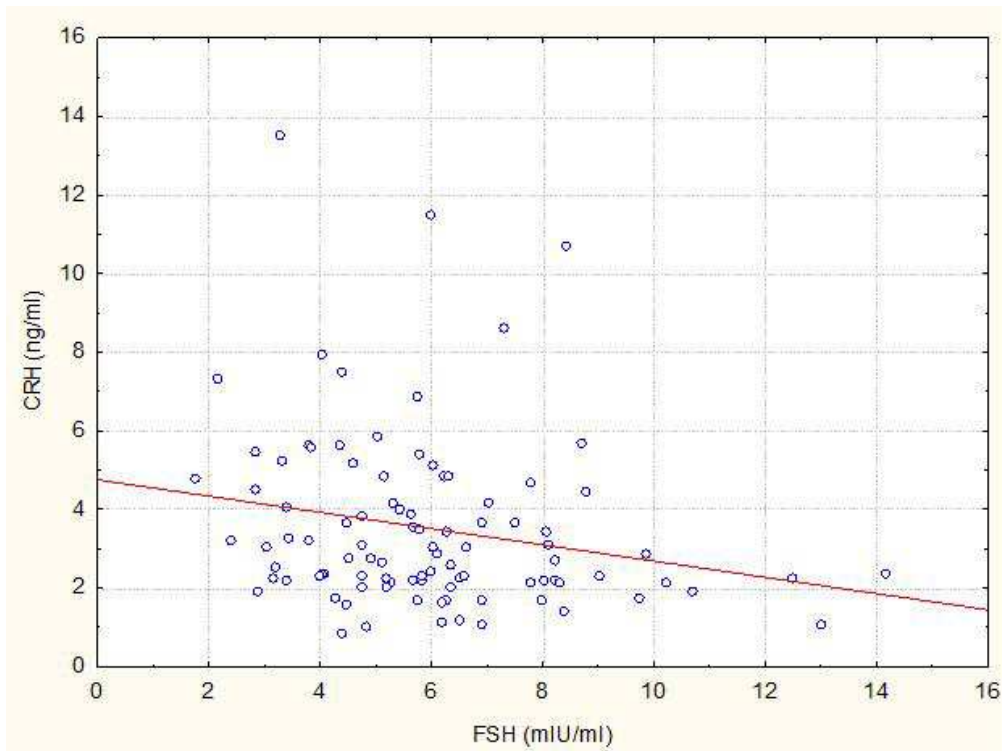
Rycina 8. Korelacja między wartościami stężeń kisspeptyny i inhibiny B w surowicy krwi u kobiet z grupy badanej (AN - z rozpoznaniem jądłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupy kontrolnej.

Występuje dodatnia korelacja ($R=0,216506$, $p=0,034114$) pomiędzy stężeniami kisspeptyny i stężeniami inhibiny B w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (AN - z rozpoznaniem jądłowstrętu psychicznego, FHA - z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.



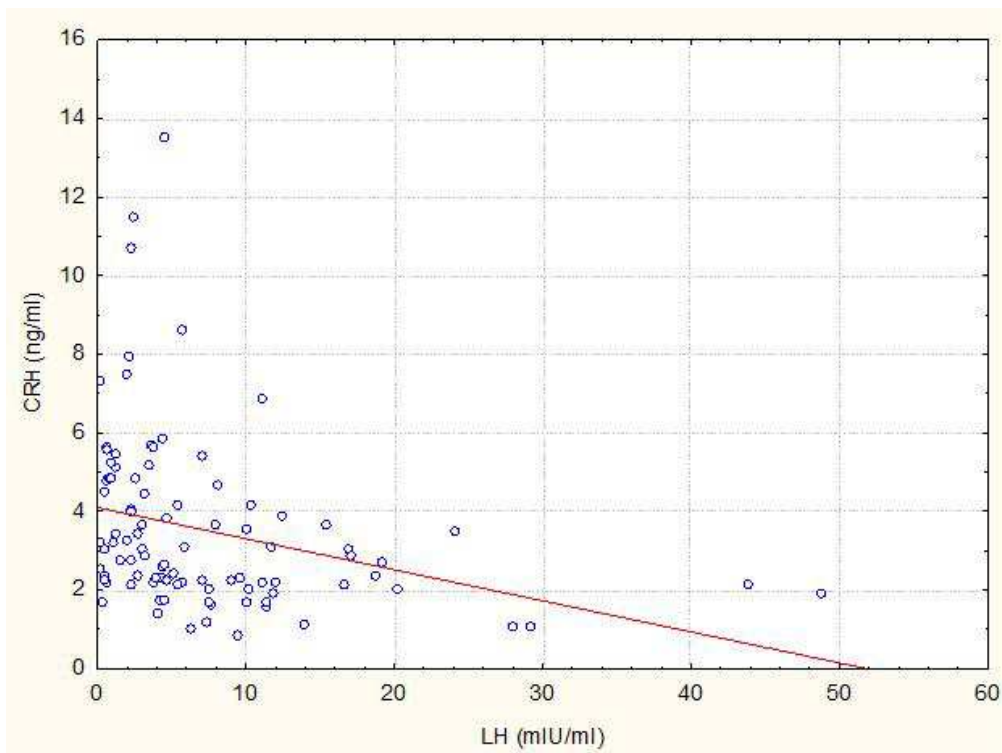
Rycina 9. Korelacja między wartościami stężeń CRH w surowicy krwi i wartościami BMI u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,305754$, $p = 0,002450$) pomiędzy stężeniami CRH w surowicy krwi i wartościami BMI u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.



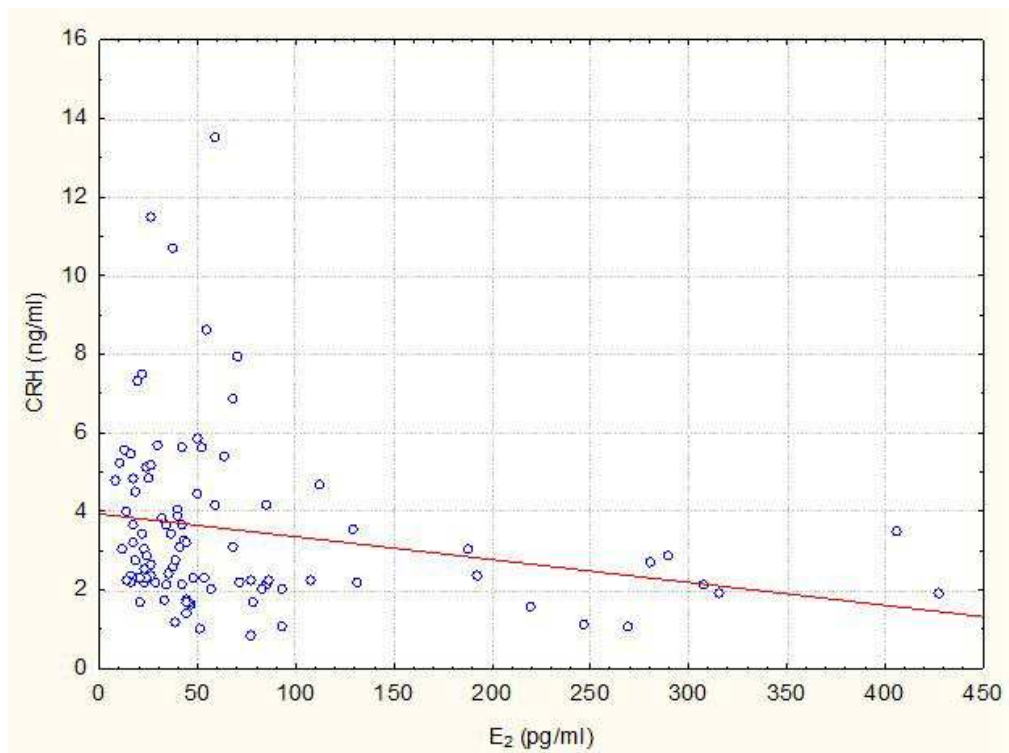
Rycina 10. Korelacja między wartościami stężeń CRH i FSH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,262760$, $p = 0,009698$) pomiędzy stężeniami CRH i stężeniami FSH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.



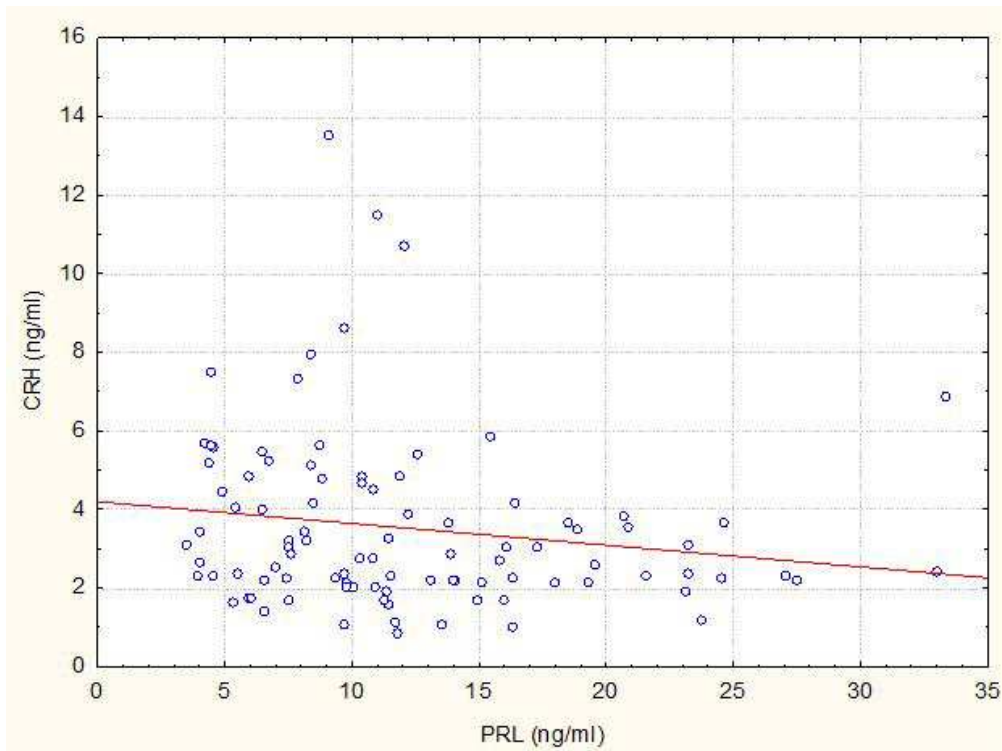
Rycina 11. Korelacja między wartościami stężeń CRH i LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,438267$, $p = 0,000008$) pomiędzy stężeniami CRH i stężeniami LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.



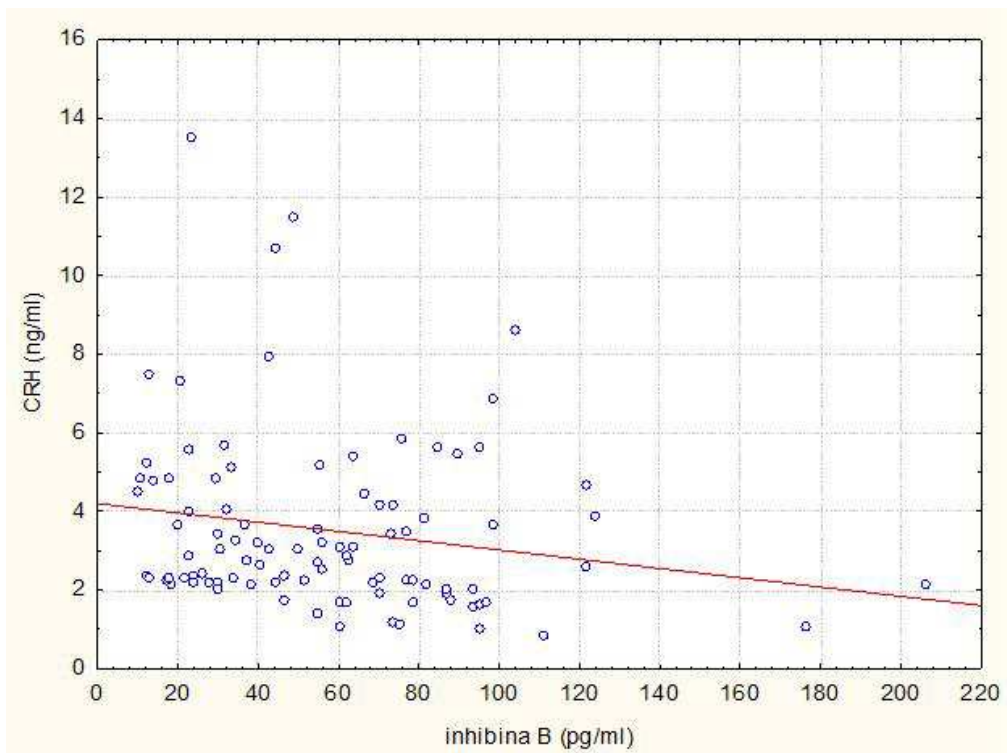
Rycina 12. Korelacja między wartościami stężeń CRH i estradiolu (E₂) w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jądłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,327471$, $p = 0,001127$) pomiędzy stężeniami CRH i stężeniami estradiolu (E₂) w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jądłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.



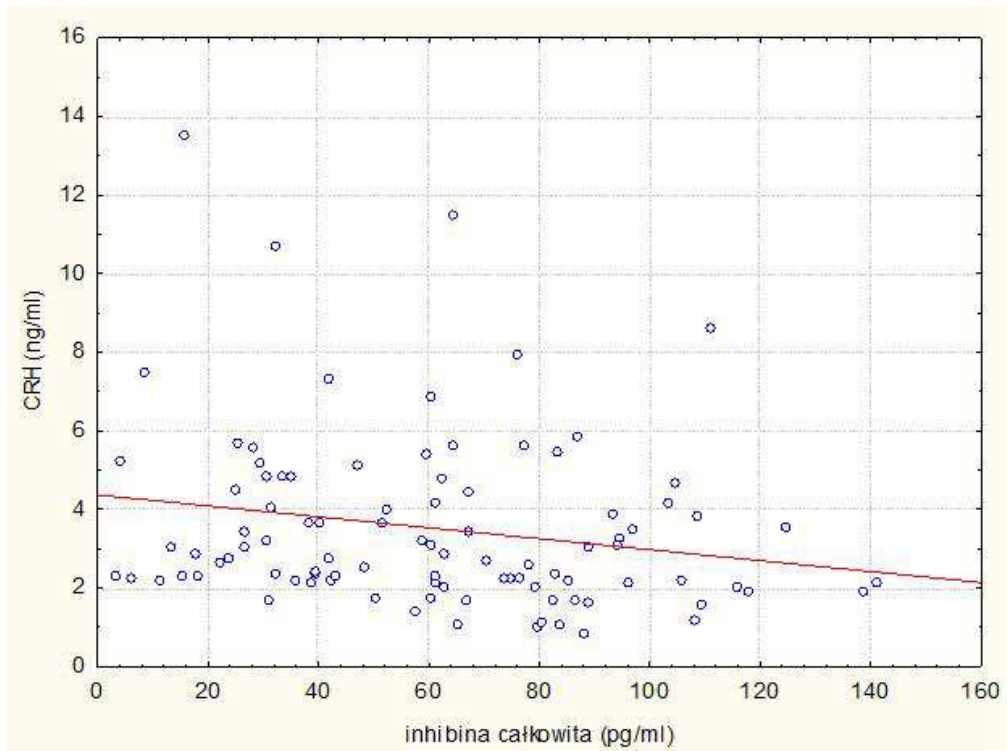
Rycina 13. Korelacja między wartościami stężeń CRH i prolaktyny w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,214751$, $p = 0,035629$) pomiędzy stężeniami CRH i stężeniami prolaktyny w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.



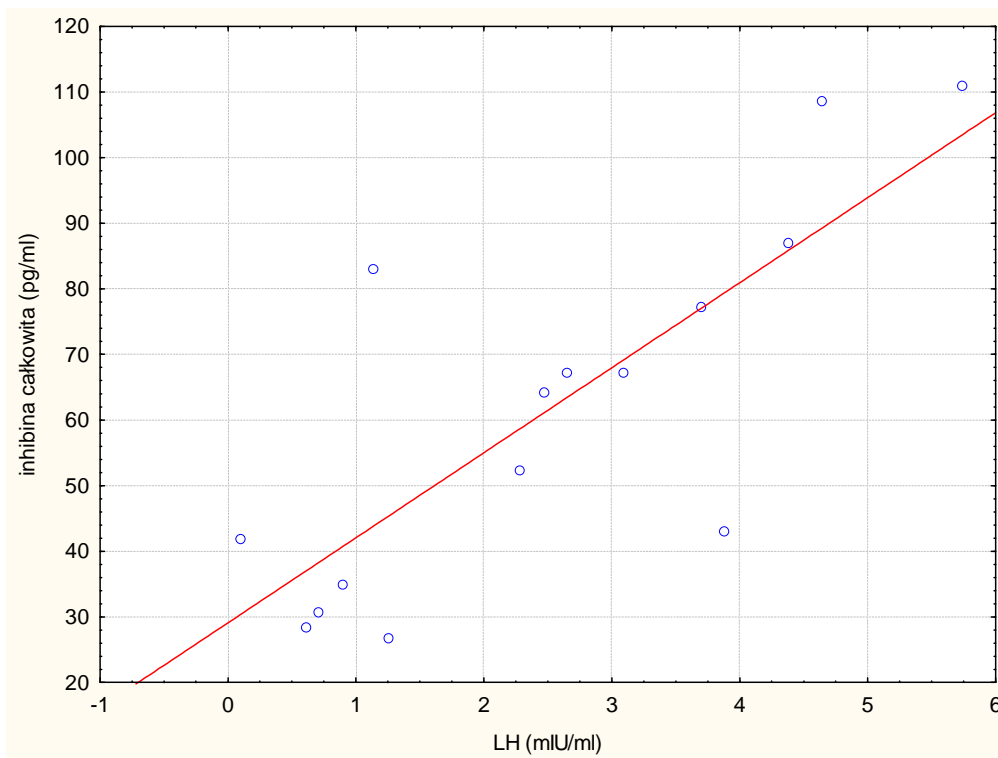
Rycina 14. Korelacja między wartościami stężeń CRH i inhibiny B w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,251156$, $p = 0,013576$) pomiędzy stężeniami CRH i stężeniami inhibiny B w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.



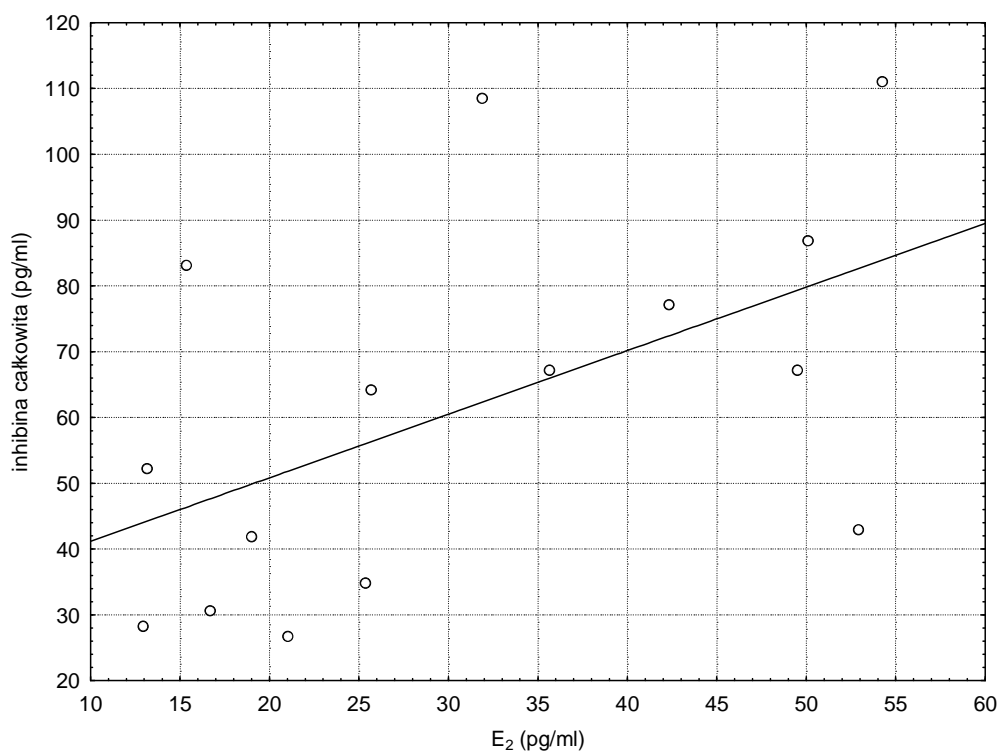
Rycina 15. Korelacja między wartościami stężeń CRH i inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.

Występuje ujemna korelacja ($R = -0,266063$, $p = 0,008790$) pomiędzy stężeniami CRH i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej (z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki) i w grupie kontrolnej.



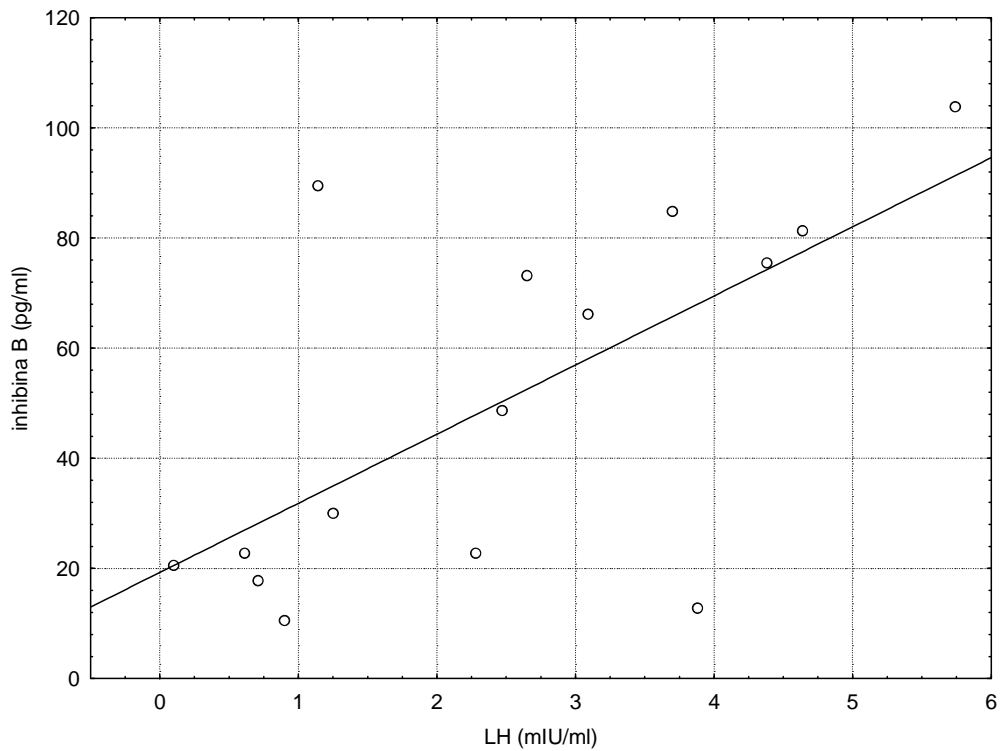
Rycina 16. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny całkowitej i LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.

Występuje dodatnia korelacja ($R= 0,773906$, $p=0,000710$) pomiędzy stężeniami inhibiny całkowitej i stężeniami LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.



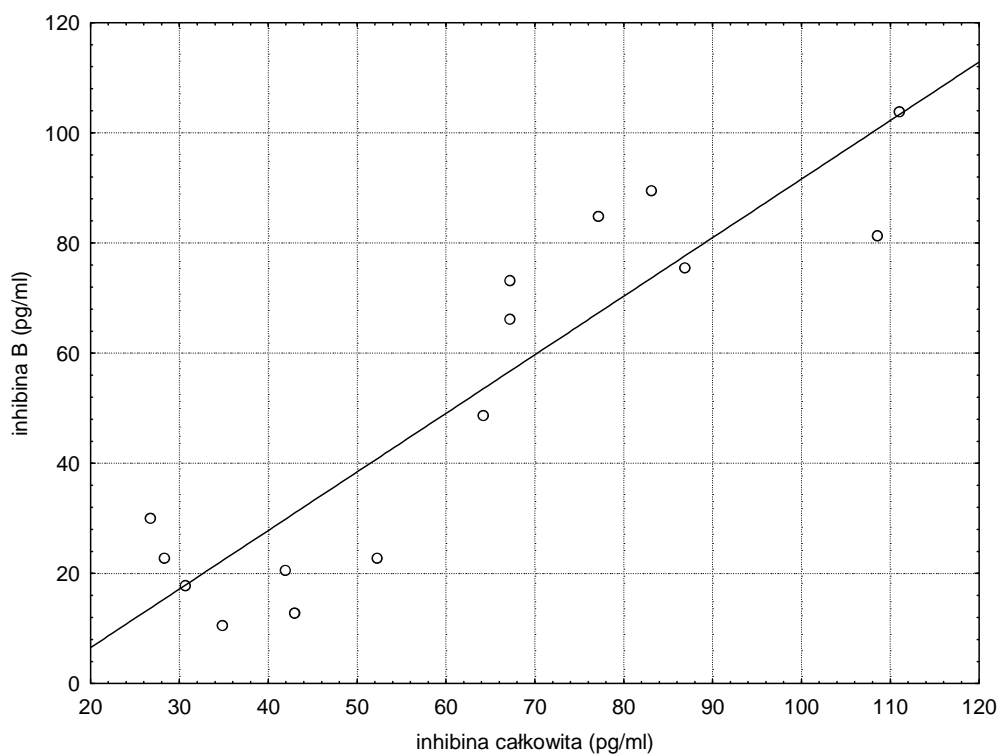
Rycina 17. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny całkowitej i estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.

Występuje dodatnia korelacja ($R= 0,575514$, $p=0,024777$) pomiędzy stężeniami inhibiny całkowitej i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.



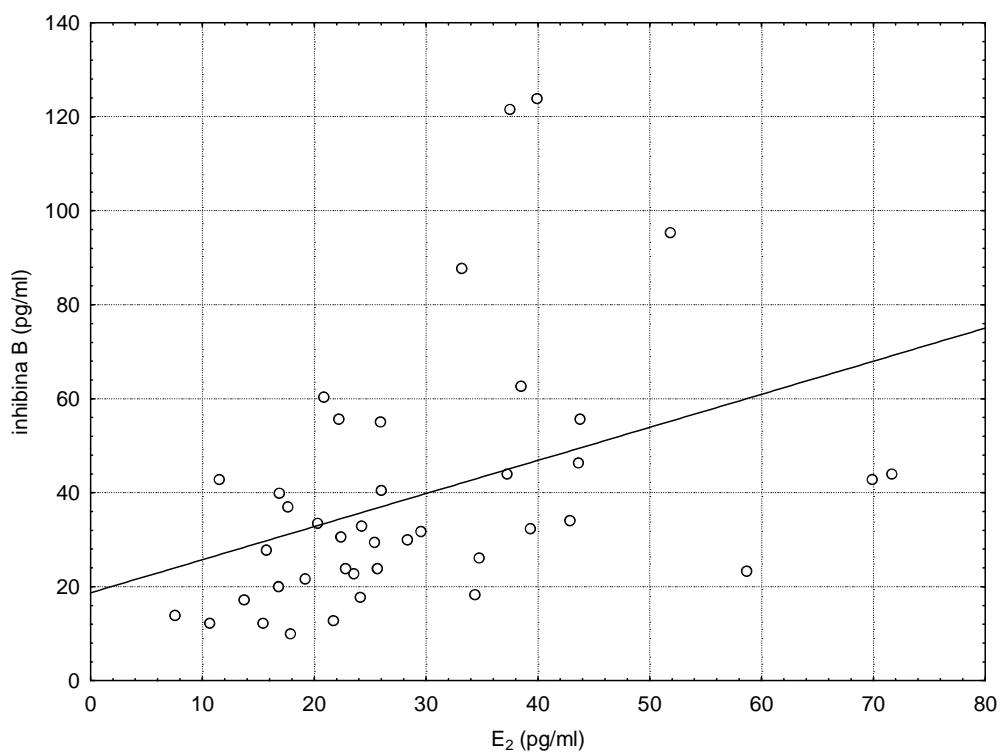
Rycina 18. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.

Występuje dodatnia korelacja ($R= 0,591600$, $p=0,020176$) pomiędzy stężeniami inhibiny B i stężeniami LH w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym.



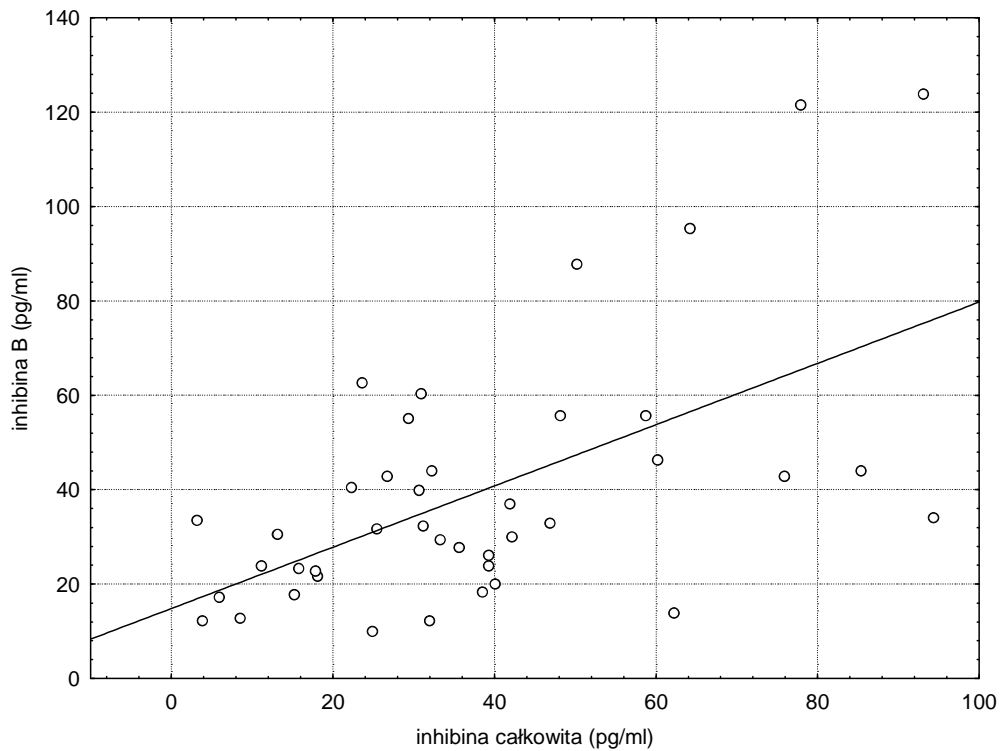
Rycina 19. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jądłowstrętem psychicznym.

Występuje dodatnia korelacja ($R= 0,591600$, $p=0,020176$) pomiędzy stężeniami inhibiny B i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem jądłowstrętem psychicznym.



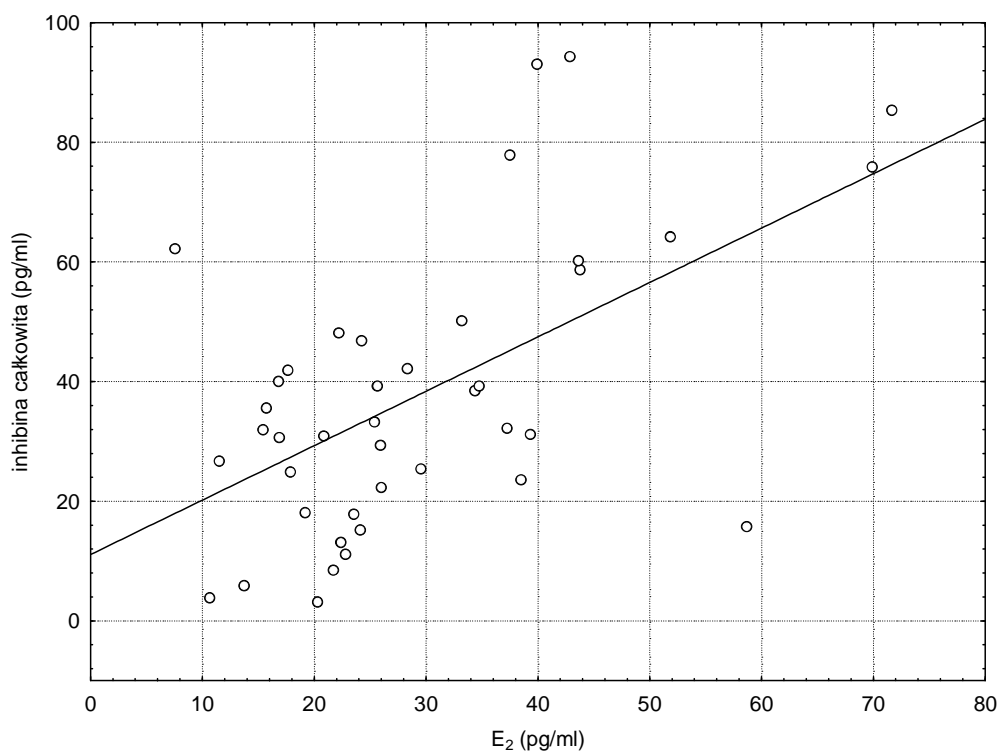
Rycina 20. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.

Występuje dodatnia korelacja ($R= 0,546460$, $p=0,000219$) pomiędzy stężeniami inhibiny B i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.



Rycina 21. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny B i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.

Występuje dodatnia korelacja ($R = 0,512373$, $p = 0,000615$) pomiędzy stężeniami inhibiny B i stężeniami inhibiny całkowitej w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.



Rycina 22. Korelacja między wartościami stężeń inhibiny całkowitej i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.

Występuje dodatnia korelacja ($R = 0,479202$, $p = 0,001525$) pomiędzy stężeniami inhibiny całkowitej i stężeniami estradiolu w surowicy krwi u kobiet w grupie badanej z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki.

Podsumowanie wyników badań:

1. Pacjentki z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki oraz jadłowstrętem psychicznym charakteryzują się istotnie wyższymi stężeniami CRH w surowicy krwi w porównaniu do zdrowych kobiet.
2. Stwierdza się istotnie statystycznie niższe wartości stężeń w zakresie kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej.
3. Pacjentki z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki oraz jadłowstrętem psychicznym charakteryzują się istotnie niższymi stężeniami inhibiny B w surowicy krwi w porównaniu do zdrowych kobiet.
4. Wykazano istotnie niższe stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym niż w grupie kontrolnej.
5. Stwierdza się ujemną korelację pomiędzy stężeniami CRH a stężeniami gonadotropin oraz estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym i w grupie kontrolnej.
6. Wykazano dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami inhibiny B i inhibiny całkowitej a stężeniami estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym.

IX. DYSKUSJA

Wtórny brak miesiączki występuje u około 2-4% kobiet, stanowiąc istotny problem kliniczny. Natomiast, podwzgórzowy brak miesiączki jest jedną z najczęstszych przyczyn wtórnego braku miesiączki. Szczególnie dotyczy to tak zwanego czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki związanego z nadmierną utratą masy ciała, nadmiernym wysiłkiem fizycznym lub stresem. Znacznie rzadziej czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki stanowi przyczynę pierwotnego braku miesiączki⁵⁷.

Jadłowstręt psychiczny oprócz zaburzeń odżywiania charakteryzuje się także podwzgórzowym brakiem miesiączki⁷².

Zgodnie z definicją, patofizjologia podwzgórzowego braku miesiączki odnosi się do zaburzeń pulsacyjnego wydzielania gonadoliberyny (GnRH)⁵⁷. Spektrum zaburzeń wydzielania GnRH-LH w podwzgórzowym braku miesiączki obejmuje najczęściej obniżenie częstotliwości lub brak pulsacyjnego wydzielania LH⁵⁷.

Istotny jest fakt, iż u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki obserwujemy bardzo niskie stężenia estrogenów w surowicy krwi. Ma to niezwykle negatywny wpływ na zdrowie kobiet zarówno w krótkofalowej, jak i odległej perspektywie⁶¹.

Przeprowadzone do tej pory badania u kobiet z hipoestrogenizmem u młodych kobiet z podwzgórzowym brakiem miesiączki wskazują na występowanie u nich zaburzeń funkcji rozrodczych, ze strony układu sercowo-naczyniowego oraz metabolicznych, w tym zaburzeń w obrębie układu kostnego i wielu innych⁶¹. Niedobór estrogenów ma jednoznacznie negatywny wpływ na zdrowie kobiet. Wyselekcjonowanie grupy pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki, ich diagnostyka i leczenie ma więc kolosalne znaczenie dla zapewnienia prawidłowych funkcji rozrodczych i metabolicznych w tej grupie kobiet⁶¹.

Dotychczasowe metody diagnozowania podwzgórzowego braku miesiączki wydają się być niedoskonałe. Wyniki rutynowo wykonywanych badań często bywają niejednoznaczne, co utrudnia prawidłowe leczenie pacjentki. Problem podwzgórzowego

braku miesiączki jest często niedoceniany i bagatelizowany ze strony zarówno pacjentek jak i lekarzy.

Precyzyjne mechanizmy leżące u neurohormonalnego podłoża podwzgórzowego braku miesiączki są bardzo złożone i nie do końca poznane. Wiele neuropeptydów, neurotransmiterów i neurosterydów odgrywa istotną rolę w fizjologicznej regulacji wydzielania GnRH. Istnieją dowody naukowe, że niektóre z tych substancji mogą być włączone w patofizjologię podwzgórzowego braku miesiączki ⁶⁴.

Udokumentowaną rolę w patomechanizmie funkcjonalnego braku miesiączki odgrywa kortykoliberyna (CRH). W zakresie regulacji osi gonadalnej, działanie CRH polega na bezpośrednim jak również pośrednim (poprzez β -endorfiny) hamowaniu GnRH. CRH należy do najczęściej rozważanych neurohormonów odgrywających istotną rolę w podwzgórzowym braku miesiączki. Dlatego też, to właśnie kortykoliberyna stała się ważnym elementem niniejszej pracy.

W piśmiennictwie stosunkowo niewiele jest prac opisujących podstawowe stężenie CRH w surowicy krwi kobiet z podwzgórzowym brakiem miesiączki.

Już 22 lata temu, Hohtari i wsp. ²¹ po raz pierwszy opublikowali pracę dotyczącą oceny stężeń CRH w osoczu krwi u kobiet uprawiających sport z podwzgórzowym brakiem miesiączki ²¹. Poddano próbie wysiłkowej sportsmenki w liczbie 12 z brakiem miesiączki oraz 8 z prawidłowym cyklem miesiączkowym. Oprócz stężenia CRH, badano również stężenia ACTH oraz endorfin w osoczu krwi u sportsmenek w trakcie odpoczynku oraz w trakcie jazdy na rowerze wymagającego 80% i 100% maksymalnego poboru tlenu. Stężenia CRH w osoczu krwi u sportsmenek w grupie z brakiem miesiączki nie różniły się w czasie wysiłku fizycznego w porównaniu z grupą sportsmenek z prawidłowym cyklem miesiączkowym. W obu grupach kobiet, stwierdzono znaczący wzrost stężeń zarówno ACTH i także endorfin w osoczu krwi w odpowiedzi na wysiłek fizyczny. Dodatkowo stwierdzono wyższe stężenia endorfin w osoczu krwi w trakcie spoczynku u sportsmenek z brakiem miesiączki w porównaniu ze sportsmenkami z prawidłowym cyklem miesiączkowym. Ustalono, iż u sportsmenek zarówno miesiączkujących jak i niemiesiączkujących stwierdza się taką samą odpowiedź na wysiłek fizyczny w obrębie stężeń ACTH i endorfin ²¹.

W naszych badaniach udało nam się znaleźć wiele interesujących korelacji i zależności w zakresie stężeń CRH z innymi parametrami w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym.

Stężenie CRH w surowicy krwi u kobiet z rozpoznaniem FHA jest istotnie statystycznie wyższe niż u kobiet z grupy kontrolnej ($p < 0,00028$).

Podobnie, u kobiet z rozpoznaniem AN stężenia CRH w surowicy krwi również są wyższe niż u kobiet z grupy kontrolnej. Występuje istotna statystycznie różnica w stężeniach CRH w surowicy krwi pomiędzy grupą kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym a kobietami z grupy kontrolnej ($p < 0,00001$). Jednak, istnieje też istotna statystycznie różnica pomiędzy stężeniami CRH w surowicy krwi u kobiet z rozpoznaniem FHA w porównaniu z kobietami z rozpoznaniem AN. U kobiet z rozpoznaniem AN występują istotnie statystycznie wyższe wartości CRH w surowicy krwi w porównaniu z kobietami z rozpoznaniem FHA ($p < 0,0288$). Może być to dowodem świadczącym, iż zaburzenia w obrębie podwzgórza u kobiet z AN mają głębsze neuroendokrynne podłoże niż zaburzenia występujące u kobiet z rozpoznaniem FHA. Należy przypomnieć, iż podwyższone stężenia CRH w surowicy krwi, ale także w podwyższone stężenie kortyzolu w płynie mózgowo-rdzeniowym u kobiet z FHA jak również u kobiet z AN, powodują w rezultacie hamowanie wydzielania GnRH w podwzgórzu^{157 158}.

W 2000 roku Berga i wsp.¹⁵⁹ przebadali pacjentki z podwzgórzowym brakiem miesiączki. Oznaczyli między innymi stężenia CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym. Stwierdzili statystycznie istotnie wyższe wartości CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym u kobiet z podwzgórzowym brakiem miesiączki w porównaniu z kobietami zdrowymi¹⁵⁹.

W piśmiennictwie możemy znaleźć również prace dotyczące testu z CRH. Wielokrotnie badana była odpowiedź organizmu na podanie CRH. Egzogenne podanie kortykoliberyny powoduje podwyższenie jej stężenia w surowicy krwi. Tak więc, przeprowadzenie testu z CRH, może odzwierciedlać reakcję organizmu pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki, u których również stwierdza się podwyższenie stężenia CRH w surowicy krwi.

Badania w zakresie odpowiedzi na podanie CRH przeprowadzone zostały także w 1989 roku przez Loucks i wsp.¹⁶⁰. Badali oni zmiany zachodzące w zakresie układu i osi podwzgórzowo – przysadkowo - jajnikowej i podwzgórzowo – przysadkowo - nadnerczowej u sportsmenek. Badaniem objęto 9 sportsmenek regularnie miesiączkujących, tyle samo sportsmenek z zaburzeniem miesiączkowania o typie braku miesiączki oraz 8 kobiet prowadzących siedzący tryb życia regularnie miesiączkujących. Stężenie ACTH w osoczu i stężenia kortyzolu w surowicy krwi w odpowiedzi na podanie ludzkiego CRH były obniżone u sportsmenek^{160 161 162}.

W 1989 roku Berga i wsp.⁸⁴ przebadali 10 kobiet z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki. Badano między innymi odpowiedź kobiet na test z CRH. Nie stwierdzono różnic w zakresie odpowiedzi hormonów przysadkowych na test z CRH w porównaniu z grupą kontrolną, regularnie miesiączkującą⁸⁴.

Praca opisująca stężenia endorfin, kortykotropiny, kortyzolu i LH w osoczu w odpowiedzi na test z CRH to publikacja Hohtari i wsp.⁵⁶. Stwierdzono negatywną korelację pomiędzy maksymalnym zużyciem tlenu a odpowiedzią ACTH na CRH w całej grupie badanych sportsmenek z wtórnym brakiem miesiączki⁵⁶.

Męczekalski i wsp.¹⁶³ w 2000 roku opisali grupę pacjentek z czynnościowym brakiem miesiączki na podłożu stresu. Badania dotyczyły oceny stężeń FSH, LH, estradiolu, ACTH, allopregnenolonu i kortyzolu w odpowiedzi na test z CRH. Odpowiedź ze strony ACTH, allopregnenolonu oraz kortyzolu była znacząco statystycznie słabsza u pacjentek z brakiem miesiączki mimo prawidłowej masy ciała¹⁶³.

Wszystkie przeprowadzone dotąd badania ukazujące osłabioną odpowiedź ze strony kortyzolu, endorfin, allopregnenolonu i ACTH na test z CRH u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki, wskazują na znacznie obniżoną wrażliwość i ekspresję receptorów dla CRH u badanych kobiet.

W piśmiennictwie istnieje wiele prac dotyczących CRH u pacjentek z jądłowstrętem psychicznym.

W 1986 roku Hotta i wsp.¹⁶⁴ badali stężenia ACTH i kortyzolu w osoczu krwi oraz stężenia CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentek z jądłowstrętem psychicznym. Stwierdzono osłabioną odpowiedź ACTH i kortyzolu w odpowiedzi na

test z CRH w grupie badanej. U 4 pacjentek po przyroście masy ciała stwierdzono zwiększoną odpowiedź na podanie CRH. Średnie stężenia CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym wykazano wyższe u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym^{75 166}.

Obniżoną odpowiedź ACTH na test z CRH w pacjentek z jadłowstrętem psychicznym stwierdzono w 1987, 1993 oraz w 1996 roku^{167 165 166 167 168 169}.

Jednak 5 lat wcześniej, w 1991 roku, również Brambilla i wsp.¹⁷⁰ w badaniu przeprowadzonym na 10 osobowej grupie kobiet z restrykcyjnym typem jadłowstrętu psychicznego stwierdzili prawidłową odpowiedź β -endorfiny i beta lipotropiny na działanie CRH^{170 171}.

W 1990 roku Krahn i wsp.¹⁷² badali reakcję szczurów na dokomorowe podanie CRH lub na silny czynnik stresowy. Okazało się, iż po dokomorowym podaniu CRH lub zastosowaniu silnego czynnika stresowego doszło do rozwoju zaburzenia odżywiania o typie jadłowstrętu psychicznego u badanych szczurów. Jednak zaobserwowano, iż po kilkakrotnym zastosowaniu CRH efekt anorektyczny zaczął obniżać się. Utrudniony przyrost masy ciała wystąpił tylko u szczurów, które leczone były wysokimi dawkami CRH. Te wyniki mogą mieć istotne znaczenie w rozumieniu mechanizmów powstawania zaburzeń odżywiania^{172 173 174}.

W 1994 roku Rolla i wsp.¹⁷⁵ zaobserwowali, iż zastosowanie testu z CRH i jednocześnie testu z GHRH istotnie hamuje odpowiedź GH u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym^{175 176 177 178 179}.

W 1996 roku Foppiani i wsp.¹⁸⁰ przebadali osiem kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego i nie stwierdzili zaburzeń w zakresie odpowiedzi ACTH i kortyzolu na CRH¹⁸⁰.

Powyższa praca ukazuje wiele ciekawych korelacji i zależności pomiędzy różnymi peptydami. Stwierdza się ujemną korelację między stężeniami kortykoliberyny a gonadotropinami u pacjentek w grupie badanej i grupie kontrolnej. Podobna korelacja istnieje pomiędzy stężeniami CRH a estradiolem u badanych pacjentek. Im wyższe stężenia CRH w surowicy krwi, tym obserwujemy niższe stężenia estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki.

Drugim neurohormonem analizowanym w pracy jest kisspeptyna. Kisspeptynę odkryto w 2001 roku jako produkt genu KISS, ale dopiero w 2003 r. powiązano ją z regulacją układu rozrodczego. Kisspeptyna to 54-aminokwasowy peptyd, zwany również metastatyną²⁹.

Obecnie kisspeptyna uważana jest za główny czynnik kontrolujący wydzielanie GnRH poprzez oddziaływanie na generator pulsów GnRH. Kisspeptyna oddziałuje na generator pulsów GnRH przez receptory GPR54 obecne na neuronach GnRH. Ten ciekawy peptyd działa stymulująco na wydzielanie GnRH oraz gonadotropin szczególnie w podczas dojrzewania płciowego, jak i przy regulacji cyklu miesięczkowego, uaktywniając oś podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikową. Powoduje to w następstwie zwiększone uwalnianie hormonu folikulotropowego (FSH) i luteotropowego (LH) z przedniego płata przysadki. Uważa się, iż oddziaływanie hormonów płciowych na zasadzie sprzężenia zwrotnego jest skierowane bezpośrednio na kiss-neurony, znajdujące się w mózgu³⁰.

Rola kisspeptyny nie była jak dotąd szczegółowo analizowana w czynnościowym podwzgórzowym braku miesiączki. Dane z badań eksperymentalnych wskazują na ważną rolę kisspeptyny w ośrodkowej regulacji czynności układu rozrodczego oraz jej integracji ze stanem odżywienia, biorąc potencjalny udział w patomechanizmie zaburzenia³⁴.

Podejrzuwa się, iż kisspeptyna może odgrywać istotną rolę w patofizjologii podwzgórzowego braku miesiączki, stanowiąc element szlaku sygnalizacyjnego na drodze: zasoby energii a GnRH. Odkrycie nowych mediatorów takich jak kisspeptyna, o prawdopodobnej kluczowej roli w ścieżce patogenetycznej podwzgórzowego braku miesiączki, stwarza również potencjalne możliwości odkrycia nowych opcji w zakresie leczenia tego zaburzenia.

Stężenia kisspeptyny w surowicy krwi nie były jak dotąd oceniane u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym.

Dlatego też, niniejsza praca wydaje się być interesująca, ponieważ podejmuje ciekawe, niezbadane jak dotąd obszary nauki.

Zaobserwowano, iż stężenia kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną są istotnie statystycznie niższe ($p=0,0271$). Na podstawie powyższych wyników, można przypuszczać, iż ocena stężeń kisspeptyny może mieć

istotne znaczenie tylko w czynnościowym podwzgórzowym braku miesiączki, a nie w jadłowstręcie psychicznym.

W 2007 roku Dhillon i wsp.¹⁸¹ oceniali wpływ podskórnego podania kisspeptyny na sekrecję LH w czasie trwania cyklu miesiączkowego. Stwierdzono znaczący wzrost w zakresie LH głównie w okresie przedowulacyjnym jak również zwiększone stężenie LH w fazie folikularnej. Kisspeptyna podana zarówno obwodowo, jak i dokomorowo zwiększa wydzielanie GnRH także u młodych osobników męskich myszy, niemających gonad, a to z kolei powoduje zwiększone wydzielanie LH we krwi. Peptyd ten wpływa jednocześnie na wzrost transkrypcji receptora GPR-54, przez co następuje wzmocnienie oddziaływania hormonu w organizmie. Niezachwiany układ sygnalizacji komórkowej GPR-54/kisspeptyna ma szczególnie istotne znaczenie w okresie dojrzewania, gdyż zapewnia prawidłowy przebieg tego procesu, zapoczątkowując pulsacyjne uwalnianie hormonów LH i FSH¹⁸².

Badania Dhillon i wsp.¹⁸² znalazły potwierdzenie w badaniach na myszach i wśród ludzi. Pulsacyjne uwalnianie GnRH do krążenia w przysadce następuje w późnym okresie życia płodowego lub we wczesnym okresie noworodkowym. Potem następuje faza utajenia aż do okresu dojrzewania. Reaktywacja uspiionych neuronów uwalniających GnRH w podwzgórzu jest kluczowym zdarzeniem zapoczątkowującym dojrzewanie¹⁸².

Jayasena i wsp.¹⁸³ w 2009 roku przebadali również reakcję na podanie kisspeptyny u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki. Podawano kisspeptynę podskórną jednorazowo jak również wielokrotnie oceniając efekt na funkcje rozrodcze. Kobietom z rozpoznaniem czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki podawano dwa razy dziennie podskórną kisspeptynę przez okres dwóch tygodni. W pierwszym dniu badania zaobserwowano istotny wzrost w zakresie LH i FSH u badanych pacjentek. Jednak w 14 dniu badania stwierdzono znaczne zredukowanie odpowiedzi na podanie kisspeptyny¹⁸³.

Podobne badanie przeprowadzono w 2010 roku, podając podskórną kisspeptynę dwa razy tygodniowo. Po 8 tygodniach podskórnej terapii kisspeptyną dwa razy w tygodniu uzyskano u pacjentek w czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki znacznie podwyższone wartości gonadotropin w porównaniu z grupą kontrolną, której podawano 0,9 % NaCl¹⁸⁴.

Bezpośrednim systemem kontrolującym dojrzewanie jest kompleks ligand – receptor: białko KiSS – 1 kodowane przez gen KiSS – 1 i receptor GPR54. Rola receptora GPR–54 polega na kontroli nie tyle migracji i dojrzewania omawianych neuronów, ile pobudzania wydzielania GnRH. Wrodzone nieprawidłowości układu GPR–54/kisspeptyna prowadzą do niedojrzałości płciowej, niedorozwoju gonad, zmniejszenia stężenia hormonów płciowych oraz gonadotropin w organizmie cech określanym mianem izolowanego hipogonadyzmu hipogonadotropowego wywołanych u myszy i ludzi ¹⁸⁵.

W celu pełnej oceny osi podwzgórzowo-przysadkowej-jajnikowej u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki badano również inhibinę B oraz inhibinę całkowitą w surowicy krwi. W ostatnim czasie dyskutowane jest znaczenie inhibin w patofizjologii podwzgórzowego braku miesiączki. Nie przeprowadzono jednak badań oceniających korelacje między stężeniem inhibin, a neurohormonami wydzielanymi przez podwzgórze u tych chorych.

Poza tym, oznaczenie inhibiny B może pozwolić ujawnić przypadki, w których obok komponenty podwzgórzowej, w etiologii braku miesiączki, odgrywa też rolę zmniejszona rezerwa jajnikowa.

Inhibina B produkowana jest głównie w komórkach ziarnistych jajnika ⁹⁷. Uważana jest za marker wzrostu pęcherzyków i może być zastosowana do monitorowania owulacji i oceny rezerwy jajnikowej ⁹⁹.

Na inhibinę całkowitą składa się suma prekursorów, podjednostek i cząsteczek inhibin. Jej oznaczenia znalazły jak dotąd zastosowanie tylko w onkologii ginekologicznej, natomiast brak jest danych na temat oceny jej roli w funkcjach rozrodczych ¹²⁷.

Inhibiny należą do peptydów jajnikowych, będących ważnym czynnikiem utrzymującym sprzężenie zwrotne ujemne między jajnikiem a ośrodkami w ośrodkowym układzie nerwowym: hamują wydzielanie FSH w przysadce oraz, bezpośrednio, uwalnianie GnRH w podwzgórz ¹⁰⁴. W związku z powyższym, podwyższone stężenie inhibin powoduje zmiany neuroendokrynne odpowiadające podwzgórzowemu brakowi miesiączki (supresja GnRH) ¹⁰⁴.

Jak dotąd nie badano stężeń inhibiny całkowitej u chorych z podwzgórzowym brakiem miesiączki. W przypadku inhibiny B uzyskano natomiast wyniki niejednoznaczne.

W powyższej pracy uzyskano istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej ($p=0,0178$). Istotnie statystycznie niższe stężenia inhibiny B w surowicy krwi stwierdzono także u pacjentek z FHA w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0001$).

W zakresie inhibiny całkowitej, wykazano istotnie statystycznie niższe stężenia tego peptydu w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z pacjentkami z FHA ($p=0,0284$). Średnie stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z FHA były istotnie statystycznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0001$).

Dodatkowo, zaobserwowano istotnie statystycznie wyższe stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z AN w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0168$).

Wykazano również dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami zarówno inhibiny B jak i stężeniami inhibiny całkowitej a stężeniami estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jądłowstrętem psychicznym.

Pierwsza publikacja na temat inhibiny B i czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki ukazała się w 1998 roku. Petraglia i wsp.¹⁰⁷ oznaczyli stężenia inhibiny A, inhibiny B i aktywiny A u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki, u pacjentek z przedwczesnym wygasaniem czynności jajników oraz u zdrowych kobiet w okresie pomenopauzalnym. W grupie pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki stwierdzono podobne wartości stężeń w zakresie inhibiny A i inhibiny B. Stężenie aktywiny A u tych pacjentek były istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z pacjentkami z pozostałych grup badanych¹⁰⁷.

W 2000 roku Casper i wsp.¹⁰⁹ przebadali pacjentki z zaburzeniami owulacji przed i po wykonanym teście z GnRH. Oznaczono stężenia inhibiny A, inhibiny B, aktywiny A i pro α -C w surowicy krwi po podaniu 100 μ g gonadoreliny u 19 pacjentek cierpiących z powodu zaburzeń owulacji. Stwierdzono nieznaczny wzrost w zakresie wartości stężeń inhibiny B po 60 minutach od podania GnRH. Dodatkowo, wykazano ujemną korelację pomiędzy wysokimi stężeniami inhibiny B przed testem z GnRH i nieznacznym wzrostem w zakresie stężeń FSH po 60 minutach po zastosowaniu testu¹⁰⁹.

Jonard i wsp.¹¹⁰ w 2005 roku badali stężenia AMH, estradiolu, inhibiny B oraz gonadotropin w surowicy krwi u 31 pacjentek z rozpoznaniem czynnościowego pod-

wzgórzowego braku miesiączki. Porównano pacjentki z 30 zdrowymi kobietami we wczesnej fazie folikularnej. Oceniono również liczbę pęcherzyków jajnikowych. Pacjentki podzielono na dwie grupy w zależności od wielkości średnicy pęcherzyków jajnikowych (I Grupa: średnica pęcherzyka jajnikowego: 2-5 mm, II Grupa: średnica pęcherzyka jajnikowego: 6-9 mm). Stwierdzono znacząco statystycznie mniejszą liczbę pęcherzyków o średnicy 6-9 mm u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki. Ponadto stwierdzono istotnie statystycznie niższe wartości inhibiny B w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono natomiast, istotnych statystycznie różnic w zakresie stężeń LH, AMH, inhibiny B oraz ilości pęcherzyków jajnikowych¹¹⁰.

Badania stężenia inhibin w surowicy krwi u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym również były przeprowadzane. Inhibinę B u pacjentów z jadłowstrętem psychicznym oznaczano już w 2004 roku przez Popovic i wsp.¹¹³. Badacze oznaczali stężenia inhibiny B u kobiet z jadłowstrętem psychicznym w trakcie przyrostu masy ciała. Próbowano ocenić przydatność oznaczeń inhibiny B w tego typu sytuacjach. 20 pacjentek z jadłowstrętem psychicznym przystąpiło do badania w okresie gdy ich BMI wynosił około 14,3 kg/m². Badano stężenia inhibiny B u pacjentek w trakcie przybierania masy ciała. Stężenia te były wyższe u pacjentek z wyższym BMI. Oznaczanie stężeń inhibiny B może być istotnym markerem w ocenie powrotu funkcji jajnika u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym wracających do zdrowia. Stężenia inhibiny B u tych pacjentek szybciej osiągają wyższe wartości w porównaniu ze stężeniami LH¹¹³.

W 2007 van Elburg i wsp.¹¹² oceniali parametry związane z wyzdrowieniem u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym. Oznaczano stężenia FSH, inhibiny B i AMH w surowicy krwi w grupie 61 zdrowiejących pacjentek z jadłowstrętem psychicznym. Badania potwierdziły wcześniejsze prace, iż wartości stężeń inhibiny B, które rosną wraz ze wzrostem masy ciała i powrotem miesiączek^{112 186}.

Już w 2010 udało nam się przebadać pacjentki z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki pod kątem stężeń inhibiny B w surowicy krwi. Stwierdziliśmy

wtedy, statystycznie istotnie niższe wartości stężeń inhibiny B w surowicy krwi u pacjentek z zaburzeniami podwzgórza¹⁰⁸.

Luisi i wsp.¹¹¹ w 2011 roku opisali stężenia AMH, inhibiny B oraz inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym. Przebadano 64 kobiety z rozpoznaniem podwzgórzowego czynnościowego braku miesiączki oraz 18 kobiet z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego. Stwierdzono istotnie statystycznie niższe wartości stężeń inhibiny B i inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki ($p < 0,0001$) ($p < 0,0001$) oraz u pacjentek z jadłowstrętem psychicznym ($p < 0,05$) ($p < 0,0001$) w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej¹¹¹.

Oprócz powyżej ujętej pracy w literaturze nie spotyka się innych publikacji dotyczących stężeń inhibiny całkowitej ani w czynnościowym podwzgórzowym braku miesiączki jak również w jadłowstręcie psychicznym.

Badania nad podwzgórzowym brakiem miesiączki oraz neuroendokrynnymi uwarunkowaniami jadłowstrętu psychicznego mają bardzo istotne znaczenie zarówno poznawcze jak i kliniczne. Patofizjologia wymienionych zaburzeń jest bardzo złożona. Dotyczy przede wszystkim upośledzenia sekrecji nie tylko GnRH ale także innych kluczowych neurohormonów podwzgórzowych. Ważne znaczenie ma również przesledzenie zmian wtórnych dotyczących wydzielania hormonów przez jajnik.

Tego typu badania mogą prowadzić z jednej strony do opracowania dodatkowych markerów wykorzystywanych w diagnostyce podwzgórzowego braku miesiączki a z drugiej strony do zastosowania nowych metod leczenia tego zaburzenia. Przykładami mogą być tutaj próby z zastosowaniem antagonistów CRH lub podawanie kisspeptyny pacjentkom z wtórnym brakiem miesiączki pochodzenia podwzgórzowego.

X. WNIOSKI

Na podstawie powyższych badań zostały sformułowane następujące wnioski:

1. Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki oraz jadłowstręt psychiczny charakteryzuje się istotnymi zmianami w wydzielaniu kortykoliberyny (CRH) oraz peptydów jajnikowych (inhibina B, inhibina całkowita).
2. Podwyższone stężenie kortykoliberyny w surowicy krwi, działającej inhibicyjnie na wydzielanie gonadotropin, może stanowić potencjalny marker podwzgórzowego braku miesiączki.
3. Ocena stężeń kisspeptyny wydaje się mieć istotne znaczenie w czynnościowym podwzgórzowym braku miesiączki, a nie w jadłowstręcie psychicznym.
4. Obniżone stężenie inhibiny B oraz inhibiny całkowitej u pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym, podwzgórzowym brakiem miesiączki w porównaniu z kobietami zdrowymi może być dowodem na zahamowaną funkcję jajników w grupie badanej.

XI. STRESZCZENIE

Wstęp.

Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki jest zaburzeniem funkcjonalnym związanym z odwracalnym upośledzeniem pulsacyjnego wydzielania GnRH.

Jadłowstręt psychiczny (anorexia nervosa- AN) to zaburzenie dotyczące przyjmowania pokarmów, charakteryzujące się skrajnym ograniczeniem jedzenia oraz nieprawidłowym postrzeganiem własnego ciała, jego masy i kształtu.

U pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym oprócz zaburzeń odżywiania występuje również podwzgórzowy braki miesiączki. Wiele neuropeptydów, neurotransmiterów i neurosterydów odgrywa istotną rolę w fizjologicznej regulacji wydzielania GnRH.

Cel badania.

Celem przedstawianego badania jest ocena roli kortykoliberyny (CRH), kisspeptyny, inhibiny B i inhibiny całkowitej w etiopatogenezie czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki i w przebiegu jadłowstrętu psychicznego.

Materiał i metodyka.

Do badania zakwalifikowane zostało 56 kobiet w wieku od 17 do 28 lat hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. U każdej z pacjentek rozpoznano wtórny brak miesiączki pochodzenia podwzgórzowego lub jadłowstręt psychiczny.

Pacjentki zakwalifikowano do dwóch grup klinicznych:

* I grupę stanowiło 15 pacjentek, u których rozpoznano jadłowstręt psychiczny.

Rozpoznanie postawiono w oparciu o kryteria diagnostyczne Klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrii z 1994 roku (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV).

* II grupę stanowiło 41 pacjentek z rozpoznaniem czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki, uwarunkowanego stresem, nadmiernym wysiłkiem fizycznym lub

utrata masy ciała, bez współistnienia zaburzeń odżywiania. Kobiety spełniały następujące kryteria:

- rozpoznanie wtórnego braku miesiączki, określanego jako brak miesiączki przez okres dłuższy niż 90 dni, niezwiązany z ciążą,
- obniżone stężenie LH w surowicy krwi (<5 mIU/ml).

Grupa kontrolna obejmowała 40 pacjentek, do której zakwalifikowano zdrowe kobiety.

Każda z badanych pacjentek została poinformowana o charakterze badania i wyraziła pisemną zgodę na udział w nim.

Uzyskano także zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu na przeprowadzenie wyżej wymienionego badania (uchwała nr 982/07).

U wszystkich kobiet przeprowadzono badanie podmiotowe i przedmiotowe. Ponadto, u wszystkich pacjentek przeprowadzono badanie przedmiotowe, obejmujące: masę ciała, wzrost, BMI, badanie ginekologiczne, badanie ultrasonograficzne narządu rodowego sondą dopochwową aparatu Aloka Prosound Alpha 6.

Badanie surowic krwi pacjentek zostało przeprowadzone metodą immunoenzymatyczną (ELISA– enzyme-linked immunosorbent assay). Oznaczono stężenia CRH, kisspeptyny, inhibiny B oraz inhibiny całkowitej, FSH, LH, estradiolu, prolaktyny, testosteronu, w surowicy krwi pacjentek z grupy badanej i kontrolnej.

Wyniki.

Pacjentki z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki oraz jadłowstrętem psychicznym charakteryzują się istotnie wyższymi stężeniami CRH w surowicy krwi w porównaniu do zdrowych kobiet.

Stwierdza się istotnie statystycznie niższe wartości stężeń w zakresie kisspeptyny w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej.

Pacjentki z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki oraz jadłowstrętem psychicznym charakteryzują się istotnie niższymi stężeniami inhibiny B w surowicy krwi w porównaniu do zdrowych kobiet.

Wykazano istotnie niższe stężenia inhibiny całkowitej w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym niż w grupie kontrolnej.

Stwierdza się ujemną korelację pomiędzy stężeniami CRH a stężeniami gonadotropin oraz estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym i w grupie kontrolnej.

Wykazano dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami inhibiny B i inhibiny całkowitej a stężeniami estradiolu w surowicy krwi u pacjentek z czynnościowym podwzgórzowym brakiem miesiączki i jadłowstrętem psychicznym.

Wnioski.

1. Czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki oraz jadłowstręt psychiczny charakteryzuje się istotnymi zmianami w wydzielaniu kortykoliberyny (CRH) oraz peptydów jajnikowych (inhibina B, inhibina całkowita).
2. Podwyższone stężenie kortykoliberyny w surowicy krwi, działającej inhibycyjnie na wydzielanie gonadotropin, może stanowić potencjalny marker podwzgórzowego braku miesiączki.
3. Ocena stężeń kisspeptyny wydaje się mieć istotne znaczenie w czynnościowym podwzgórzowym braku miesiączki, a nie w jadłowstręcie psychicznym.
4. Obniżone stężenie inhibiny B oraz inhibiny całkowitej u pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętem psychicznym, podwzgórzowym brakiem miesiączki w porównaniu z kobietami zdrowymi może być dowodem na zahamowaną funkcję jajników w grupie badanej.

XII. SUMMARY

Introduction.

Functional hypothalamic amenorrhea is a disorder associated with reversible functional impairment of pulsatile secretion of GnRH.

Anorexia nervosa (AN) is a disorder characterized by extreme restriction of food intake and incorrect perception of patients' body, its weight and shape. Patients diagnosed with anorexia nervosa apart from an eating disorder are characterized also by hypothalamic amenorrhea. Many neuropeptides, neurotransmitters and neurosteroids play an important role in physiological regulation of GnRH secretion.

Purpose of the study.

The aim of the study is to assess the role of corticotropin-releasing hormone (CRH), kisspeptin, inhibin B and total inhibin in the etiology of functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa.

Material and methods.

The study was classified as 56 women aged from 17 to 28 years old hospitalized at the Department of Gynecological Endocrinology, Medical University in Poznan. In each of the patients secondary amenorrhea with hypothalamic origin or anorexia nervosa was diagnosed.

Patients were classified into two groups:

* I group consisted of 15 patients diagnosed with anorexia nervosa. Diagnosis was made on the basis of diagnostic criteria for classification of the American Society of Psychiatry in 1994 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV).

* II group included 41 patients diagnosed with functional hypothalamic amenorrhea, related to stress, excessive exercise or weight loss, without the coexistence of eating disorders. Women meet the following criteria:

- diagnosis of secondary amenorrhea, defined as amenorrhea for more than 90 days, not related to pregnancy,

- low levels of serum LH (<5 mIU / ml).

The control group consisted of 40 patients, which enrolled healthy women. Each of the patient was informed about the study and expressed written consent to participate in the study.

The approval from the Commission of Bioethics at the University of Medical Sciences in Poznan was obtained (Resolution No. 982/07).

All patients were examined, including: weight, height, BMI, gynecological examination, gynecological ultrasound vaginal probe Aloka Prosound Alpha 6.

Examination of serum blood from patients was performed by ELISA-enzyme-linked immunosorbent assay. Concentrations of serum CRH, kisspeptin, inhibin B, total inhibin, FSH, LH, estradiol, prolactin, testosterone were analyzed in patients from study and control group.

Results.

Patients with functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa are characterized by significantly higher serum CRH compared to healthy women. Significantly lower serum kisspeptin concentrations are found in patients with functional hypothalamic amenorrhea compared to women in the control group. Patients with functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa are characterized by significantly lower serum inhibin B concentrations compared to healthy women.

The study showed significantly lower serum total inhibin concentrations in patients with functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa in comparison to controls.

Negative correlation between serum CRH to gonadotropin and estradiol concentrations in patients with functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa was found. The study revealed positive correlations between serum inhibin B and total inhibin concentrations to estradiol in patients with functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa.

Conclusions.

On the basis of our studies following conclusions have been stated:

1. Functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa are characterized by significant changes in the secretion of CRH and ovarian peptide (inhibin B, total inhibin).
2. Elevated serum CRH, acting inhibitory to GNRH and gonadotropin secretion, may be a potential marker of hypothalamic amenorrhea.
3. Estimation of serum kisspeptin concentrations seems to be important in functional hypothalamic amenorrhea, but not in anorexia nervosa.
4. Reduced serum inhibin B and total inhibin levels in patients diagnosed with functional hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa compared with healthy women may be an evidence of arrested ovarian function in study group.

XIII. PIŚMIENNICTWO

- ¹ Knobil E. The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res* 1980; 36: 53-88.
- ² Bochenek A, Reicher M. Międzymózgowie. Rozwój osobniczy. *Anatomia człowieka*. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich; 1963.
- ³ Bochenek A, Reicher M. Podwzgórze. *Anatomia człowieka*. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich; 1963.
- ⁴ Bochenek A, Reicher M. Jądra podwzgórza. *Anatomia człowieka*. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich; 1963.
- ⁵ Bochenek A, Reicher M. Unaczynienie tętnicze poszczególnych części mózgowia. *Anatomia człowieka*. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich; 1963.
- ⁶ Bochenek A, Reicher M. Jajnik. *Anatomia człowieka*. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich; 1963.
- ⁷ Filicori M, Santoro N, Merriam GR, Crowley WF Jr. Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1136-1144.
- ⁸ Apter D. Development of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 816: 9-21.
- ⁹ Cheng CK, Leung PC. Molecular biology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I, GnRH-II, and their receptors in humans. *Endocr Rev* 2005; 26: 283–306.
- ¹⁰ Ikemoto T, Park MK. Molecular and evolutionary characterization of the GnRH-II gene in the chicken: distinctive genomic organization, expression pattern, and precursor sequence. *Gene* 2006; 368: 28–36.
- ¹¹ Millar RP. GnRHs and GnRH receptors. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 5–28.
- ¹² Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science* 1981; 213: 1394–1397.

-
- ¹³ Potter E, Behan DP, Fischer WH, Linton EA, Lowry PJ, Vale WW. Cloning and characterization of the cDNAs for human and rat corticotropin releasing factor-binding proteins. *Nature* 1991; 349: 423-6.
- ¹⁴ Battaglia G, Webster EL, De Souza EB. Characterization of corticotropin-releasing factor receptor-mediated adenylate cyclase activity in the rat central nervous system. *Synapse* 1987; 1: 572-581.
- ¹⁵ Papadimitriou A, Priftis KN. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroimmunomodulation* 2009; 16: 265-71.
- ¹⁶ Fisher LA. Corticotropin-releasing factor: endocrine and autonomic integration of responses to stress. *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10: 189-93.
- ¹⁷ Matsuzaki I, Takamatsu Y, Moroji T. The effects of intracerebroventricularly injected corticotropin-releasing factor (CRF) on the central nervous system: behavioural and biochemical studies. *Neuropeptides* 1989; 13: 147-55.
- ¹⁸ Dunn AJ, Berridge CW. Corticotropin-releasing factor administration elicits a stress-like activation of cerebral catecholaminergic systems. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 27: 685-91.
- ¹⁹ Emoto H, Tanaka M, Koga C, Yokoo H, Tsuda A, Yoshida M. Corticotropin-releasing factor activates the noradrenergic neuron system in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 45: 419-22.
- ²⁰ Lavicky J, Dunn AJ. Corticotropin-releasing factor stimulates catecholamine release in hypothalamus and prefrontal cortex in freely moving rats as assessed by microdialysis. *J Neurochem* 1993; 60: 602-12.
- ²¹ Hohtari H, Elovainio R, Salminen K, Laatikainen T. Plasma corticotropin-releasing hormone, corticotropin, and endorphins at rest and during exercise in eumenorrheic and amenorrheic athletes. *Fertil Steril* 1988; 50: 233-8.
- ²² Petraglia F, Florio P, Nappi C, Genazzani AR. Peptide signaling in human placenta and membranes: autocrine, paracrine, and endocrine mechanisms. *Endocr Rev* 1996; 17: 156-86.

-
- ²³ McLean M, Smith R. Corticotrophin-releasing hormone and human parturition. *Reproduction* 2001; 121: 493-501.
- ²⁴ Grunt M, Glaser J, Schmidhuber H, Pauschinger P, Born J. Effects of corticotropin-releasing factor on isolated rat heart activity. *Am J Physiol* 1993; 264: H1124-9.
- ²⁵ Strijbos PJ, Hardwick AJ, Relton JK, Carey F, Rothwell NJ. Inhibition of central actions of cytokines on fever and thermogenesis by lipocortin-1 involves CRF. *Am J Physiol* 1992; 263: E632-6.
- ²⁶ Arase K, York DA, Shimizu H, Shargill N, Bray GA. Effects of corticotropin-releasing factor on food intake and brown adipose tissue thermogenesis in rats. *Am J Physiol* 1988; 255: E255-9.
- ²⁷ Britton DR, Koob GF, Rivier J, Vale W. Intraventricular corticotropin-releasing factor enhances behavioral effects of novelty. *Life Sci* 1982; 31: 363-7.
- ²⁸ Krahn DD, Gosnell BA, Grace M, Levine AS. CRF antagonist partially reverses CRF- and stress-induced effects on feeding. *Brain Res Bull* 1986; 17: 285-9.
- ²⁹ Ohtaki T, Shintani Y, Honda S et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001; 411: 613-7.
- ³⁰ Kotani M, Detheux M, Vandenberghe A et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001; 276: 34631-6.
- ³¹ Irwig MS, Fraley GS, Smith JT et al. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology* 2004; 80: 264–272.
- ³² Ohkura S, Uenoyama Y, Yamada S et al. Physiological role of metastin/kisspeptin in regulating gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in female rats. *Peptides* 2009; 30: 49-56.
- ³³ Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 2129–2134.

-
- ³⁴ Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Genazzani AR. Why kisspeptin is such important for reproduction? *Gynecol Endocrinol* 2011; 27: 8-13.
- ³⁵ Makri A, Pissimissis N, Lembessis P, Polychronakos C, Koutsilieris M. The kisspeptin (KiSS-1)/GPR54 system in cancer biology. *Cancer Treat Rev* 2008; 34: 682-92.
- ³⁶ Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastatin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci* 2004; 117: 1319-1328.
- ³⁷ Green ED, Maffei M, Braden VV et al. The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res* 1995; 5: 5-12.
- ³⁸ Di Carlo C, Tommaselli GA, Filippo E et al. Menstrual status and serum leptin levels in anorectic and in menstruating women with low body mass indexes. *Fertil. Steril* 2002; 78: 376-382.
- ³⁹ Karlsson C, Lindell K, Svensson E et al. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4144-8.
- ⁴⁰ Stephens TW, Basinski M, Bristow PK et al. The role of neuropeptide Y in the anti-obesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377: 530-2.
- ⁴¹ Beranová L, Sedláčková D, Kopecková J et al. Neuropeptide Y, ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and their changes during six-week refeeding. *Vnitr Lek* 2009; 55: 925-8.
- ⁴² Meczekalski B, Genazzani AR, Genazzani AD, Warenik-Szymankiewicz A, Luisi M. Clinical evaluation of patients with weight loss-related amenorrhea: neuropeptide Y and luteinizing hormone pulsatility. *Gynecol Endocrinol* 2006; 22: 239-43.
- ⁴³ Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr. Rev* 1989; 10: 68-91.

-
- ⁴⁴ Roberts CT Jr, Lasky SR, Lowe WL Jr, Seaman WT, LeRoith D. Molecular cloning of rat insulin-like growth factor I complementary deoxyribonucleic acids: differential messenger ribonucleic acid processing and regulation by growth hormone in extrahepatic tissues. *Mol Endocrinol* 1987; 1: 243-8.
- ⁴⁵ Gore D.C. Insulin-like growth factor I in hypercatabolic states. *Growth Horm. IGF. Res* 1998; 8: 115-116.
- ⁴⁶ Hiney JK, Ojeda SR, Dees WL. Insulin-like growth factor 1: a possible metabolic signal involved in the regulation of female puberty. *Neuroendocrinology* 1991; 54: 420–423.
- ⁴⁷ Hiney JK, Srivastava V, Nyberg CL, Ojeda SR, Dees WL. Insulin-like growth factor 1 of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty. *Endocrinology* 1996; 137: 3717–3728.
- ⁴⁸ Frystyk J, Ledet T, Møller N, Flyvbjerg A, Orskov H. Cardiovascular disease and insulin-like growth factor I. *Circulation* 2002; 106: 893-5.
- ⁴⁹ Goke B, Fehmann HC. Insulin and insulin-like growth factor-I, their role as risk factors in the development of diabetic cardiovascular disease. *Diabetes Res. Clin. Pract* 1996; 30: 93-106.
- ⁵⁰ Smith LE, Shen W, Perruzzi C et al. Regulation of vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization by insulin-like growth factor-1 receptor. *Nat Med* 1999; 5: 1390-5.
- ⁵¹ Capoluongo E, Vento G, Ameglio F et al. Increased levels of IGF-1 and beta2-microglobulin in epithelial lining fluid of preterm newborns developing chronic lung disease. effects of rhG-CSF. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2006; 19: 57-66.
- ⁵² Favoni RE, de Cupis A, Ravera F et al. Expression and function of the insulin-like growth factor I system in human non-small-cell lung cancer and normal lung cell lines. *Int J Cancer* 1994; 56: 858-66.

-
- ⁵³ Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jørgensen T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study. *Circulation* 2002; 106: 939-44.
- ⁵⁴ Smith L.E. IGF-1 and retinopathy of prematurity in the preterm infant. *Biol. Neonate* 2005; 88: 237-244.
- ⁵⁵ Sullivan SD, Howard LC, Clayton AH, Moenter SM. Serotonergic activation rescues reproductive function in fasted mice: does serotonin mediate the metabolic effects of leptin on reproduction? *Biol Reprod* 2002; 66: 1702-6.
- ⁵⁶ Hohtari H, Salminen-Lappalainen K, Laatikainen T. Response of plasma endorphins, corticotropin, cortisol, and luteinizing hormone in the corticotropin-releasing hormone stimulation test in eumenorrheic and amenorrheic athletes. *Fertil Steril* 1991; 55: 276-80.
- ⁵⁷ Reame NE, Sauder SE, Case GD, Kelch RP, Marshall JC. Pulsatile gonadotropin secretion in women with hypothalamic amenorrhea: evidence that reduced frequency of gonadotropin-releasing hormone secretion is the mechanism of persistent anovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 851-8.
- ⁵⁸ Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Current evaluation of amenorrhea. *Fertil Steril* 2008; 90: S219-25.
- ⁵⁹ Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Science* 1974; 185: 949-51.
- ⁶⁰ Travaglini P, Beck-Peccoz P, Ferrari C et al. Some aspects of hypothalamic-pituitary function in patients with anorexia nervosa. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1976; 81: 252-62.
- ⁶¹ Veldhuis JD, Evans WS, Demers LM, Thorner MO, Wakat D, Rogol AD. Altered neuroendocrine regulation of gonadotropin secretion in women distance runners. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 557-63.
- ⁶² Stafford DE. Altered hypothalamic-pituitary-ovarian axis function in young female athletes: implications and recommendations for management. *Treat Endocrinol* 2005; 4: 147-54.

-
- ⁶³ Facchinetti F, Fava M, Fioroni L, Genazzani AD, Genazzani AR. Stressful life events and affective disorders inhibit pulsatile LH secretion in hypothalamic amenorrhea. *Psychoneuroendocrinology* 1993; 18: 397-404.
- ⁶⁴ Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Warenik-Szymankiewicz A, Genazzani AR. Functional hypothalamic amenorrhea: current view on neuroendocrine aberrations. *Gynecol Endocrinol* 2008; 24: 4-11.
- ⁶⁵ Lawson EA, Donoho D, Miller KK et al. Hypercortisolemia is associated with severity of bone loss and depression in hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4710-6.
- ⁶⁶ Castellano JM, Navarro VM, Fernández-Fernández R et al. Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology* 2005; 146: 3917–3925.
- ⁶⁷ Andrico S, Gambera A, Specchia C, Pellegrini C, Falsetti L, Sartori E. Leptin in functional hypothalamic amenorrhoea. *Hum Reprod* 2002; 17: 2043-8.
- ⁶⁸ Chan JJ, Mantzaros ChS. Role of leptin in energy-deprivation states: normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa. *Lancet* 2005; 366: 74–85.
- ⁶⁹ Moschos S, Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and reproduction: a review. *Fertil Steril* 2002; 77: 433–444.
- ⁷⁰ Bailer UF, Kaye WH. Serotonin: imaging findings in eating disorders. *Curr Top Behav Neurosci* 2011; 6: 59-79.
- ⁷¹ Støving RK, Hangaard J, Hansen-Nord M, Hagen C. A review of endocrine changes in anorexia nervosa. *J Psychiatr Res* 1999; 33: 139-52.
- ⁷² DSM-IV. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.
- ⁷³ Wakeling A. Epidemiology of anorexia nervosa. *Psychiatry Res.* 1996; 62: 3-9.
- ⁷⁴ Józefik B. Epidemiologia zaburzeń odżywiania. W: Anoreksja i bulimia psychiczna. Rozumienie i leczenie zaburzeń odżywiania się, 1999; 22-29.

-
- ⁷⁵ Podfigurna-Stopa A, Meczekalski B, Warenik-Szymankiewicz A. How to treat anorexia nervosa?--case report. *Ginekol Pol* 2007; 78: 990-4.
- ⁷⁶ Munoz MT, Argente J. Anorexia nervosa in female adolescents: endocrine and bone mineral density disturbances. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 275-86.
- ⁷⁷ Kaye WH, Gwirtsman HE, George DT et al. Elevated cerebrospinal fluid levels of immunoreactive corticotropin-releasing hormone in anorexia nervosa: relation to state of nutrition, adrenal function, and intensity of depression; *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1987; 64: 203-208.
- ⁷⁸ Licinio J, Wong ML, Gold PW. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in anorexia nervosa. *Psychiatry Res* 1996; 62: 75-83.
- ⁷⁹ Warren MP, Voussoughian F, Geer EB, Hyle EP, Adberg CL, Ramos RH. Functional hypothalamic amenorrhea: hypoleptinemia and disordered eating. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 873-7.
- ⁸⁰ Kaye WH. Neuropeptide abnormalities in anorexia nervosa. *Psychiatry Res* 1996; 62: 65-74.
- ⁸¹ Grinspoon S, Gulick T, Askari H et al. Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J. Clin. Endocrin. Metab* 1996; 81: 3861–3963.
- ⁸² Baranowska B, Wolinska-Witort E, Wasilewska-Dziubinska E, Roguski K, Martynska L, Chmielowska M. The role of neuropeptides in the disturbed control of appetite and hormone secretion in eating disorders. *Neuro Endocrinol Lett* 2003; 24: 431-4.
- ⁸³ Kaye WH, Bailer UF, Frank GK, Wagner A, Henry SE. Brain imaging of serotonin after recovery from anorexia and bulimia nervosa. *Physiol Behav* 2005; 86: 15-7.
- ⁸⁴ Berga SL, Mortola JF, Girton L et al. Neuroendocrine aberrations in women with functional hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68: 301-8.
- ⁸⁵ Miller KK, Grinspoon S, Klibanski A. Cardiovascular risk markers in hypothalamic amenorrhoea. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 53: 359-66.

-
- ⁸⁶ Chial HJ, McAlpine DE, Camilleri M. Anorexia nervosa: manifestations and management for the gastroenterologist. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 255-69.
- ⁸⁷ Berga SL, Loucks TL. Use of cognitive behavior therapy for functional hypothalamic amenorrhea. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1092: 114-29.
- ⁸⁸ Bomba M, Gambera A, Bonini L et al. Endocrine profiles and neuropsychologic correlates of functional hypothalamic amenorrhea in adolescents. *Fertil Steril* 2007; 87: 876-85.
- ⁸⁹ Usdan LS, Khaodhiar L, Apovian CM. The endocrinopathies of anorexia nervosa. *Endocr Pract* 2008; 14: 1055-63.
- ⁹⁰ Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Genazzani AR. Hypoestrogenism in young women and its influence on bone mass density. *Gynecol Endocrinol* 2010; 26: 652-7.
- ⁹¹ Podfigurna-Stopa A, Pludowski P, Jaworski M, Lorenc R, Genazzani AR, Meczekalski B. Skeletal status and body composition in young women with functional hypothalamic amenorrhea. *Gynecol Endocrinol*. 2011 Sep 29.
- ⁹² Taxel P, Kenny A. Differential diagnosis and secondary causes of osteoporosis. *Clin Cornerstone* 2000; 2: 11-21.
- ⁹³ Powers PS. Osteoporosis and eating disorders. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1999; 12: 51-7.
- ⁹⁴ Miller KK, Lee EE, Lawson EA et al. Determinants of skeletal loss and recovery in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2931-7.
- ⁹⁵ de Kretser DM, Hedger MP, Loveland KL, Phillips DJ. Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 529-41.
- ⁹⁶ van Dijk S, Steenbergen C, de Jong FH, van der Molen HJ. Comparison between inhibin from human and bovine ovarian follicular fluid using fast protein liquid chromatography. *Mol Cell Endocrinol* 1985; 42: 245-51.

-
- ⁹⁷ Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M et al. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1401-5.
- ⁹⁸ Ryan KJ. Biochemistry of aromatase: significance to female reproductive physiology. *Cancer Res* 1982; 42: 3342–3344.
- ⁹⁹ Bukman A., Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 581-90.
- ¹⁰⁰ Monget P, Bobe J, Gougeon A, Fabre S, Monniaux D, Dalbies-Tran R. The ovarian reserve in mammals: A functional and evolutionary perspective. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 5.
- ¹⁰¹ Tinkanen H, Bläuer M, Laippala P, Tuohimaa P, Kujansuu E. Correlation between serum inhibin B and other indicators of the ovarian function. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 94: 109-13.
- ¹⁰² Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE. Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 105-11.
- ¹⁰³ Danforth DR, Arbogast LK, Mroueh J, Kim MH, Kennard EA, Seifer DB, Friedman CI. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging. *Fertil Steril* 1998; 70: 119-23.
- ¹⁰⁴ Reame NE, Wyman TL, Phillips DJ, de Kretser DM, Padmanabhan V. Net increase in stimulatory input resulting from a decrease in inhibin B and an increase in activin A may contribute in part to the rise in follicular phase follicle-stimulating hormone of aging cycling women. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3302-7.
- ¹⁰⁵ Burger HG, Cahir N, Robertson DM, Groome NP, Dudley E, Green A, Dennerstein L. Serum inhibins A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998; 48: 809-13.
- ¹⁰⁶ Muttukrishna S, Child T, Lockwood GM, Groome NP, Barlow DH, Ledger WL. Serum concentrations of dimeric inhibins, activin A, gonadotrophins and ovarian steroids during the menstrual cycle in older women. *Hum Reprod* 2000; 15: 549-56.

-
- ¹⁰⁷ Petraglia F, Hartmann B, Luisi S et al. Low levels of serum inhibin A and inhibin B in women with hypergonadotropic amenorrhea and evidence of high levels of activin A in women with hypothalamic amenorrhea. *Fertil Steril* 1998; 70: 907-12.
- ¹⁰⁸ Podfigurna-Stopa A, Luisi S, Lazzeri L, Ciani V, Meczekalski B, Petraglia F. Patients with functional hypothalamic amenorrhea are characterized by low serum inhibin B concentrations. *Pol Merkur Lekarski* 2010; 28: 350-3.
- ¹⁰⁹ Casper FW, Seufert RJ, Pollow K. Inverse correlation between baseline inhibin B and FSH after stimulation with GnRH: a study of serum levels of inhibin A and B, pro alpha-C and activin A in women with ovulatory disturbances before and after stimulation with GnRH. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 77-84.
- ¹¹⁰ Jonard S, Pigny P, Jacquesson L, Demerle-Roux C, Robert Y, Dewailly D. The ovarian markers of the FSH insufficiency in functional hypothalamic amenorrhoea. *Hum Reprod* 2005; 20: 101-7.
- ¹¹¹ Luisi S, Ciani V, Podfigurna-Stopa A et al. Serum anti-Müllerian hormone, inhibin B, and total inhibin levels in women with hypothalamic amenorrhea and anorexia nervosa. *Gynecol Endocrinol*. 2011 Jun 1. [Epub ahead of print]
- ¹¹² van Elburg AA, Eijkemans MJ, Kas MJ et al. Predictors of recovery of ovarian function during weight gain in anorexia nervosa. *Fertil Steril* 2007; 87: 902-8.
- ¹¹³ Popovic V, Djurovic M, Cetkovic A et al. Inhibin B: a potential marker of gonadal activity in patients with anorexia nervosa during weight recovery. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1838-43.
- ¹¹⁴ Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A. The role of inhibins in functions and dysfunctions of female reproduction. Part I. *Pol Merkur Lekarski* 2009; 26: 258-62.
- ¹¹⁵ Lockwood GM, Muttukrishna S, Groome NP, Matthews DR, Ledger WL. Mid-follicular phase pulses of inhibin B are absent in polycystic ovarian syndrome and are initiated by successful laparoscopic ovarian diathermy: a possible mechanism regulating emergence of the dominant follicle. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1730-5.

-
- ¹¹⁶ Munz W, Hammadeh ME, Seufert R et al. Serum inhibin A, inhibin B, pro-alphaC, and activin A levels in women with idiopathic premature ovarian failure. *Fertil Steril* 2004; 82: 760-2.
- ¹¹⁷ Gravholt CH, Naeraa RW, Andersson AM et al. Inhibin A and B in adolescents and young adults with Turner's syndrome and no sign of spontaneous puberty. *Hum Reprod* 2002; 17: 2049-53.
- ¹¹⁸ Petraglia F, Zanin E, Faletti A et al. Inhibins: paracrine and endocrine effects in female reproductive function. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11: 241-7.
- ¹¹⁹ Florio P, Luisi S, Ciarmela P. et al. Inhibins and activins in pregnancy. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 225: 93-100.
- ¹²⁰ Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP et al. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2742-5.
- ¹²¹ Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A. The role of inhibins in functions and dysfunctions of female reproduction--Part II. *Pol Merkur Lekarski* 2009; 26: 676-8.
- ¹²² Seeber BE., Barnhart KT. Suspected ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 399-413.
- ¹²³ Silver HM, Lambert-Messelian GM, Star JA et al. Comparison of maternal serum total activin A and inhibin A in normal, preeclamptic, and nonproteinuric gestationally hypertensive pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1131-7.
- ¹²⁴ Lambert-Messelian GM, Luisi S, Florio P et al. Second trimester levels of maternal serum total activin A and placental inhibin/activin alpha and betaA subunit messenger ribonucleic acids in Down syndrome pregnancy. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 425-9.
- ¹²⁵ Wallace EM, D'Antona D, Shearing C et al. Amniotic fluid levels of dimeric inhibins, pro-alpha C inhibin, activin A and follistatin in Down's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 50: 669-73.

-
- ¹²⁶ Wenstrom KD, Owen J, Chu D et al. Prospective evaluation of free beta-subunit of human chorionic gonadotropin and dimeric inhibin A for aneuploidy detection. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 887-92.
- ¹²⁷ Lappöhn RE, Burger HG, Bouma J et al. Inhibin as a marker for granulosa-cell tumors. *N Engl J Med* 1989; 321: 790-3.
- ¹²⁸ Healy DL, Burger HG, Mamers P et al. Elevated serum inhibin concentrations in postmenopausal women with ovarian tumors. *N Engl J Med* 1993; 329: 1539-42.
- ¹²⁹ Robertson DM, Pruysers E, Burger HG et al. Inhibins and ovarian cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 225: 65-71.
- ¹³⁰ Robertson DM, Stephenson T, Pruysers E et al. Characterization of inhibin forms and their measurement by an inhibin alpha-subunit ELISA in serum from postmenopausal women with ovarian cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 816-24.
- ¹³¹ Massague J. The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol* 1990; 6, 597-641.
- ¹³² Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986; 45: 685-98.
- ¹³³ Behringer RR. The in vivo roles of müllerian-inhibiting substance. *Curr. Top. Dev. Biol* 1994; 29: 171-87.
- ¹³⁴ Josso N, Lamarre I, Picard J et al. Anti-müllerian hormone in early human development. *Early Hum Dev* 1993; 33: 91-99.
- ¹³⁵ Baarends W, Uilenbroek J, Kramer P et al. Anti-Müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology* 1995; 136: 4951-4962.
- ¹³⁶ Durlinger A, Visser J, Themmen A. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 2002; 124: 601-609.

-
- ¹³⁷ Weenen C, Laven J, Von Bergh A et al. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 77-83.
- ¹³⁸ de Vet A, Laven J, de Jong F et al. Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77: 357-362.
- ¹³⁹ Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R et al. Serum anti-Mullerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20: 1820-1826.
- ¹⁴⁰ Bath L, Wallace W, Shaw M et al. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Mullerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Hum Reprod* 2003; 18: 2368-2374.
- ¹⁴¹ Moran L, Noakes M, Clifton P et al. The use of anti-mullerian hormone in predicting menstrual response following weight loss in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3796-3802.
- ¹⁴² Nelson LR, Bulun SE. Estrogen production and action. *J. Am. Acad. Dermatol* 2001; 45: S116-24.
- ¹⁴³ Ratiani L, Parkosadze G, Koptonashvili L, Ormotsadze G, Sulaqvelidze M, Sanikidze T. Correlation of atherogenetic biomarkers and estradiol changes in postmenopause. *Georgian Med News* 2011; 195: 100-5.
- ¹⁴⁴ Jilka RL. Cytokines, bone remodeling, and estrogen deficiency: a 1998 update. *Bone* 1998; 23: 75-81.
- ¹⁴⁵ Ribot CA, Trémollières FA. Effect of estrogens on bone and other systems and hormonal substitute treatment. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9: 362-9.
- ¹⁴⁶ Prossnitz ER, Arterburn JB, Sklar LA. GPR30: A G protein-coupled receptor for estrogen. *Mol. Cell. Endocrinol* 2007; 265-266: 138-42.
- ¹⁴⁷ Caronia LM, Martin C, Welt CK et al. A genetic basis for functional hypothalamic amenorrhea. *N Engl J Med* 2011; 364: 215-25.

-
- ¹⁴⁸ Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Warenik-Szymankiewicz A. Anorexia nervosa--new view on neuroendocrine and genetic determinations. *Ginekol Pol* 2006; 77: 634-42.
- ¹⁴⁹ Gorwood P, Kipman A, Foulon C. The human genetics of anorexia nervosa. *Eur J Pharmacol* 2003; 480: 163-70.
- ¹⁵⁰ Kipman A, Gorwood P, Mouren-Simeoni MC et al. Genetic factors in anorexia nervosa. *Eur Psychiatry* 1999; 14: 189-98.
- ¹⁵¹ Rybakowski F, Slopian A, Dmitrzak-Weglarz M i wsp. Association study of 5-HT2A receptor gene polymorphism in anorexia nervosa in Polish population. *Psychiatr Pol* 2003; 37: 47-55.
- ¹⁵² Ricca V, Nacmias B, Cellini E et al. 5-HT2A receptor gene polymorphism and eating disorders. *Neurosci Lett* 2002; 323: 105-8.
- ¹⁵³ Hinney A, Remschmidt H, Hebebrand J. Candidate gene polymorphisms in eating disorders. *Eur J Pharmacol* 2000; 410: 147-159.
- ¹⁵⁴ Kipman A, Gorwood P, Mouren-Simeoni MC et al. Genetic factors in anorexia nervosa. *Eur Psychiatry* 1999; 14: 189-98.
- ¹⁵⁵ Genazzani AD, Ricchieri F, Lanzoni C, Strucchi C, Jasonni VM. Diagnostic and therapeutic approach to hypothalamic amenorrhea. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1092: 103-13.
- ¹⁵⁶ Geithövel F, Rabe T. The ESHRE/ASRM consensus on polycystic ovary syndrome (PCOS)--an extended critical analysis. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 522-35.
- ¹⁵⁷ Rabin D, Gold PW, Margioris AN, Chrousos GP. Stress and reproduction: physiologic and pathophysiologic interactions between the stress and reproductive axes. *Adv Exp Med Biol* 1988; 245: 377-87.
- ¹⁵⁸ Brundu B, Loucks TL, Adler LJ, Cameron JL, Berga SL. Increased cortisol in the cerebrospinal fluid of women with functional hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 9: 1561-5.

-
- ¹⁵⁹ Berga SL, Loucks-Daniels TL, Adler LJ, Chrousos GP, Cameron JL, Matthews KA, Marcus MD. Cerebrospinal fluid levels of corticotropin-releasing hormone in women with functional hypothalamic amenorrhea. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 182: 776-81.
- ¹⁶⁰ Loucks AB, Mortola JF, Girton L, Yen SS. Alterations in the hypothalamic-pituitary-ovarian and the hypothalamic-pituitary-adrenal axes in athletic women. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68: 402-11.
- ¹⁶¹ Kondoh Y, Uemura T, Murase M, Yokoi N, Ishikawa M, Hirahara F. A longitudinal study of disturbances of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in women with progestin-negative functional hypothalamic amenorrhea. *Fertil Steril* 2001; 76: 748-52.
- ¹⁶² Biller BM, Federoff HJ, Koenig JI, Klibanski A. Abnormal cortisol secretion and responses to corticotropin-releasing hormone in women with hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 311-7.
- ¹⁶³ Meczekalski B, Tonetti A, Monteleone P et al. Hypothalamic amenorrhea with normal body weight: ACTH, allopregnanolone and cortisol responses to corticotropin-releasing hormone test. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 280-5.
- ¹⁶⁴ Hotta M, Shibasaki T, Masuda A et al. The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 319-24.
- ¹⁶⁵ Bando H, Yamasaki R, Saito S. Evaluation of hypothalamic-pituitary function in a combination of tests with four hypothalamic releasing hormones and L-dopa in normal subjects and in patients with hypothalamic and/or pituitary disorders. *Endocrinol Jpn* 1989; 36: 705-20.
- ¹⁶⁶ Brambilla F, Ferrari E, Panerai A et al. Psychoimmunoendocrine investigation in anorexia nervosa. *Neuropsychobiology* 1993; 27: 9-16.
- ¹⁶⁷ Brambilla F, Ferrari E, Brunetta M et al. Immunoendocrine aspects of anorexia nervosa. *Psychiatry Res* 1996; 62: 97-104.

-
- ¹⁶⁸ Nappi RE, Petraglia F, Genazzani AD, D'Ambrogio G, Zara C, Genazzani AR. Hypothalamic amenorrhea: evidence for a central derangement of hypothalamic-pituitary-adrenal cortex axis activity. *Fertil Steril* 1993; 59: 571-6.
- ¹⁶⁹ Staurengi AH, Masera RG, Prolo P et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function, psychopathological traits, and natural killer (NK) cell activity in anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology* 1997; 22: 575-90.
- ¹⁷⁰ Brambilla F, Ferrari E, Petraglia F, Facchinetti F, Catalano M, Genazzani AR. Peripheral opioid secretory pattern in anorexia nervosa. *Psychiatry Res* 1991; 39: 115-27.
- ¹⁷¹ Kaye WH, Rubinow D, Gwirtsman HE et al. CSF somatostatin in anorexia nervosa and bulimia: relationship to the hypothalamic pituitary-adrenal cortical axis. *Psychoneuroendocrinology* 1988; 13: 265-72.
- ¹⁷² Krahn DD, Gosnell BA, Majchrzak MJ. The anorectic effects of CRH and restraint stress decrease with repeated exposures. *Biol Psychiatry* 1990; 27: 1094-102.
- ¹⁷³ Glowa JR, Bacher JD, Herkenham M. et al. Selective anorexigenic effects of corticotropin releasing hormone in the rhesus monkey. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1991; 15: 379-91.
- ¹⁷⁴ Glowa JR, Gold PW. Corticotropin releasing hormone produces profound anorexigenic effects in the rhesus monkey. *Neuropeptides* 1991; 18: 55-61.
- ¹⁷⁵ Rolla M, Andreoni A, Bellitti D, Ferdeghini M, Ghigo E, Müller EE. Corticotrophin-releasing hormone does not inhibit growth hormone-releasing hormone-induced release of growth hormone in control subjects but is effective in patients with eating disorders. *J Endocrinol* 1994; 140: 327-32.
- ¹⁷⁶ Connan F, Lightman SL, Landau S, Wheeler M, Treasure J, Campbell IC. An investigation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity in anorexia nervosa: the role of CRH and AVP. *J Psychiatr Res* 2007; 41: 131-43.
- ¹⁷⁷ Brambilla F. Social stress in anorexia nervosa: a review of immuno-endocrine relationships. *Physiol Behav* 2001; 73: 365-9.

-
- ¹⁷⁸ Duclos M, Corcuff JB, Roger P, Tabarin A. The dexamethasone-suppressed corticotrophin-releasing hormone stimulation test in anorexia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 51: 725-31.
- ¹⁷⁹ Staurengi AH, Masera RG, Prolo P et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function, psychopathological traits, and natural killer (NK) cell activity in anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology* 1997; 22: 575-90.
- ¹⁸⁰ Foppiani L, Sessarego P, Valenti S et al. Lack of effect of desmopressin on ACTH and cortisol responses to ovine corticotropin-releasing hormone in anorexia nervosa. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 879-83.
- ¹⁸¹ Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL et al. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3958-66.
- ¹⁸² Messenger S, Chatzidaki ME, Ma D et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 1761-1766.
- ¹⁸³ Jayasena CN, Nijher GM, Chaudhri OB et al. Subcutaneous injection of kisspeptin-54 acutely stimulates gonadotropin secretion in women with hypothalamic amenorrhea, but chronic administration causes tachyphylaxis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4315-23.
- ¹⁸⁴ Jayasena CN, Nijher GM, Abbara A et al. Twice-weekly administration of kisspeptin-54 for 8 weeks stimulates release of reproductive hormones in women with hypothalamic amenorrhea. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 88: 840-7.
- ¹⁸⁵ Nimri R, Lebenthal Y, Lazar L, Chevrier L, Phillip M, Bar M, Hernandez-Mora E, de Roux N, Gat-Yablonski G. A novel loss-of-function mutation in GPR54/KISS1R leads to hypogonadotropic hypogonadism in a highly consanguineous family. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96: E536-45.

¹⁸⁶ Cetković A, Djurović M, Milić N. Leptin and inhibin B as predictors of reproductive recovery in patients with anorexia nervosa during weight gain. *Srp Arh Celok Lek* 2006; 134: 492-7.