

**Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu**

**WPLYW DWUSKŁADNIKOWEJ TABLETKI
ANTYKONCEPCYJNEJ NA STAN PĘCHERZYKA
JAJNIKOWEGO i ENDOMETRIUM**

ZBIGNIEW SZYMONIAK

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. n. med. Beata Banaszewska

**Poradnia Ginekologiczno - Położnicza
Ginekologiczno – Położniczy Szpital Kliniczny w Poznaniu**

Poznań 2017

SPIS TREŚCI

I.	WYKAZ SKROTÓW STOSOWANYCH w PRACY.....	3
II	WSTĘP.....	4
	A. Gestageny.....	5
	B. Estrogeny.....	6
	C. Rodzaje dwuskładnikowej tabletki antykoncepcyjnej.....	8
	D. Skuteczność antykoncepcji.....	9
	E. Działania pozaantykoncepcyjne doustnych środków antykoncepcyjnych.....	11
III	CEL PRACY.....	13
IV	MATERIAŁ.....	14
V	METODY.....	16
VI	WYNIKI.....	19
VII	DYSKUSJA.....	41
VIII	WNIOSKI.....	56
IX	STRESZCZENIE.....	57
X	PIŚMIENNICTWO.....	63

I WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH w PRACY

- AFC – liczba pęcherzyków antralnych
AMH – hormon antymüllerowski
AMP – adenozyno-5'-monofosforan
CL – ciało żółte (corpus luteum)
d.c. – dzień cyklu
DRSP - drospirenon
DSG - dezogestrel
DTA - dwuskładnikowa tabletki antykoncepcyjna
E₂ – estradiol
EE – etynyloestradiol
EV - walerianian estradiolu
FSH - hormon folikulotropowy
GES – gestoden
GnRH - gonadoliberyna
HFI – przerwa bez hormonów (ang. hormone-free interval)
IOI – okres pomiędzy owulacjami (ang. interovulatory interwał)
LH - hormon luteotropowy
LNG – levonorgestrel
NET – noretisterone
NETA – octan noretindronu
NGS – norgestimat
PCOS – zespół policystycznych jajników
SHBG – globulina wiążąca hormony płciowe
TGF- β - transformujący czynnik wzrostu – β
VTE – żylna choroba zakrzepowo-zatorowa (ang. Venous Thromboembolism)

II WSTĘP

Definicja zdrowia według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) mówi o tym, że jest to stan pełnego fizycznego, umysłowego i społecznego dobrostanu, a nie tylko całkowity brak choroby czy niepełnosprawności. W ostatnich latach definicja ta została uzupełniona o sprawność do „prowadzenia produktywnego życia społecznego i ekonomicznego”, a także o wymiar duchowy. Możliwość decydowania o swojej płodności doskonale wpisuje się w te założenia. Wśród 210 mln ciąż każdego roku, ok. 38 % z nich jest nieplanowana, a 22% z nich kończy się aborcją. Świadome planowanie rodziny i kontrola nad płodnością, edukacja seksualna oraz dostęp do metod antykoncepcyjnych, w tym doustnych środków antykoncepcyjnych wg raportu WHO z 2008 roku zdecydowanie zmniejsza ilość dokonywanych aborcji^{1,2,3}. Coraz więcej krajów w poprawie dostępu do metod kontroli urodzeń widzi narzędzie do walki z niechcianymi ciążami i wysokim odsetkiem aborcji. Doustna antykoncepcja ze względu na wygodę stosowania, bezpieczeństwo i dość wysoką skuteczność wydaje się być idealnym środkiem do osiągnięcia tego celu. Od 2017 roku każda Szwedka poniżej 20 roku życia może otrzymać bezpłatne doustne środki antykoncepcyjne. Doustna antykoncepcja hormonalna dla kobiet oparta jest na dwóch zasadniczych formułach składu: tabletkach zawierających estrogeny i progestageny oraz tabletkach zawierających wyłącznie progestageny. Jest obecnie najpowszechniej stosowaną odwracalną metodą na świecie⁴.

Historia antykoncepcji hormonalnej zaczyna się w 1921 roku gdy Ludwig Haberlandt wykazał na modelu zwierzęcym przejściowe antykoncepcyjne działanie przeszczepienia jajników od innego ciężarnego zwierzęcia⁵. Kolejnym krokiem było odkrycie w 1930 roku przez Edwarda Doisy żeńskich hormonów płciowych⁶. Pierwszy syntetyczny gestagen – noretynodron zsyntetyzował austriacki Żyd Carl Djerassi w 1951 roku⁷, natomiast pierwszą dwuskładnikową tabletkę antykoncepcyjną (DTA) opracowali Gregory Pincus i Min-Chueh Chang w 1957 roku. Preparat ten początkowo wykorzystywany był wyłącznie do leczenia zaburzeń miesiączkowania, a dopiero w 1960 roku został dopuszczony przez Amerykańską Agencję d.s. Leków i Żywności jako środek antykoncepcyjny - Enovid⁸. Jako pierwszy terminu „The Pill”, czyli pigułka, w odniesieniu do DTA użył w 1958r. angielski powieściopisarz i filozof Aldous Huxley w zbiorze esejów „Brave New World Revisited”. Pierwsza zarejestrowana tabletkę antykoncepcyjną zawierała 150 µg mestranolu jako czynnika estrogennego oraz 9,85 mg noretynodrelu jako gestagenu⁹. Należy nadmienić, że

stosowanie Enovidu w USA, a Anovlaru w RFN rekomendowane było wyłącznie dla zamężnych kobiet oraz do regulacji cyklu ¹⁰.

Zasadniczym mechanizmem działania DTA jest hamowanie osi podwzgórze – przysadka – jajnik, co skutkuje zmniejszeniem stężenia hormonu folikulotropowego (FSH) i hormonu luteinizującego (LH) i prowadzi do zmniejszenia aktywności pęcherzyków jajnikowych oraz zapobiega jajeczkowaniu. Ponadto DTA zmniejszają przenikliwość śluzu szyjkowego dla plemników, utrudniając tym samym migrację plemników, a zmieniając endometrium zmniejszają prawdopodobieństwo implantacji ¹¹.

Projektując schemat dawkowania odwzorowano naturalny rytm krwawień miesięczkowych. Schemat przewidywał przyjmowanie tabletek o tej samej porze przez 21 dni z następującą 7-dniową przerwą bez hormonów (ang: hormone-free interval - HFI). Długość przerwy wynikała z czasu potrzebnego dla obniżenia stężenia gestagenu we krwi tak aby wystąpiło krwawienie z odstawienia. Wprowadzenie przerwy w przyjmowaniu tabletek miało na celu zwiększenie psychicznej akceptacji terapii przez pacjentki, jakkolwiek nie było to działanie oparte na konkretnych naukowych podstawach. Comiesięczne krwawienie uspokajało kobiety, że nie są w ciąży ¹².

A. Gestageny

Gestageny charakteryzują się plejotropowym działaniem i dlatego wywierają na organizm kobiety ogromny wpływ. Receptory progesteronowe znajdują się w macicy, jajowodach, gruczołach sutkowych, ośrodkowym układzie nerwowym oraz przysadce. Ich potencjał antykoncepcyjny został wykorzystany najpierw w preparatach jednoskładnikowych, a później w DTA. Naturalny progesteron, mimo iż dobrze znana była jego rola w hamowaniu owulacji, nie mógł być używany w hormonalnych środkach antykoncepcyjnych z powodu jego szybkiego metabolizmu. Zrodziła się konieczność stworzenia syntetycznych gestagenów. Syntetyczne progestageny stosowane w praktyce klinicznej pochodzą od testosteronu (pochodne 19-nortestosteronu) albo od progesteronu (pochodne 17-hydroksyprogesteronu i 19-norprogesteronu). Na początku DTA zawierały pochodne 19-nortestosteronu czyli gestageny I generacji tzw. – estrany (noretyndron, noretynodrel). Są to związki o silnym działaniu androgennym. Kolejna II generacja to gonany takie jak levonorgestrel (LNG) czy norgestrel. Gonany cechuje większe powinowactwo dla receptorów progesteronowych, lecz

również ciągle duże powinowactwo do receptorów androgenowych^{13,14}. Następną III generację, czyli dezogestrel (DSG), gestoden (GES), norgestimiat (NGS), cechuje słabe działanie androgenne przy wysokiej swoistości w stosunku do receptora progesteronowego. Substancje te nie wywierają działania na receptor estrogenowy, ale posiadają różny stopień powinowactwa do receptora glikokortykosteroidowego, a także mineralokortykoidowego. Pochodne 19-norprogesteronu są określane jako czystoprogestagenne molekuly, gdyż bardzo selektywnie wiążą się z receptorem progesteronowym, prawie w ogóle nie wchodząc w reakcje z innymi receptorami steroidowymi. Zalicza się do tej grupy promegeston, trimegeston, octan nomegestrolu oraz Nesterone®.

Inną grupę związków stanowią pochodne 17-hydroksyprogesteronu (pregnany), do której należą octany medroksyprogesteronu, megestrolu, cyproteronu i chlormadinonu. Związki te charakteryzują się nieco mniejszym powinowactwem do receptora progesteronowego, lecz nie posiadają właściwości androgennych, zaś octan cyproteronu ma silne działanie antyandrogenowe.

Do oddzielnej grupy (gestageny IV generacji) należy - drospirenon (DRSP), który pochodzi od spironolaktonu. Cechuje się on nie tylko silnym działaniem gestagennym, ale też antymineralokortykosteroidowym i antyandrogenowym. Jednocześnie jest prawie całkowicie pozbawiony aktywności estrogennej, glikokortykoidowej czy antyglikokortykoidowej. Uważa się, że profil farmakologiczny DRSP jest bardzo podobny do naturalnego progesteronu ze względu na jego oddziaływanie na receptory progesteronowe i mineralokortykoidowe¹⁵⁻²². Drugim gestagenem z tej grupy jest dienogest – pochodna nortestosteronu, która *in vivo* wykazuje silne działanie progestagenne i antyandrogenowe bez aktywności glikokortykoidowej i mineralokortykoidowej.

B. Estrogeny

Choć estrogeny również współuczestniczą w antyowulacyjnym mechanizmie antykoncepcyjnym tabletek poprzez hamowanie zarówno FSH jak i LH, głównym powodem ich dodania do pierwotnie tylko gestagennych preparatów była stabilizacja endometrium i poprawa kontroli cyklu^{23,24}. Początkowo w preparatach antykoncepcyjnych próbowano wykorzystać 17-beta estradiol (E₂). Okazało się to jednak niemożliwe ze względu na małą stabilność tego hormonu podawanego drogą doustną i znaczną redukcję jego aktywności podczas procesu pierwszego przejścia przez wątrobę²⁵. Skutkowało to nieprawidłową

kontrolą cyklu, krwawieniami śródcyklicznymi i nieprzewidywalnością preparatów złożonych bazujących na E₂²⁶.

Aktualnie w doustnych środkach antykoncepcyjnych wykorzystuje się etynyloestradiol (EE), pochodną naturalnego E₂ nieulegającą strawieniu w przewodzie pokarmowym. W porównaniu do E₂ posiada 233% swoistości do receptora estrogenowego (ER) α i 38% do ER β . Ponadto w przeciwieństwie do E₂, charakteryzującego się wysoką swoistością do globuliny wiążącej hormony płciowe (SHBG), EE nie jest wiązany przez to białko i wiąże się praktycznie wyłącznie z albuminą (97-98%)²⁷. Zwiększa to dodatkowo jego biodostępność w porównaniu do E₂.

Początkowo DTA zawierały wysokie dawki EE (150 μ g), które stopniowo były obniżane do stosowanych aktualnie dawek między 20 μ g a 35 μ g. Są również dostępne preparaty zawierające zaledwie 15 μ g EE. Dane z dużych badań przeglądowych wykazały, że DTA o bardzo niskiej dawce EE (<20 μ g) są równie skuteczne w zapobieganiu jajczkowaniu jak preparaty o wyższej dawce¹³. Choć dawka estrogenów przy prawidłowym przyjmowaniu nie ma prawdopodobnie dużego wpływu na skuteczność, zaobserwowano różnice w zależnej od dawki tolerancji terapii. Preparaty z wyższą dawką EE (35 μ g) charakteryzowały 50% większym ryzykiem wystąpienia właściwych estrogenom działań ubocznych: wzdęcia, mdłości i bolesność piersi²³. Z drugiej strony DTA zawierające <20 μ g EE wiązały się z nieregularnymi krwawieniami, rzadkimi miesiączkami lub ich brakiem, plamieniami lub częstymi krwawieniami. Skutkowało to wyższym odsetkiem przerywania leczenia¹³. Od początku stosowania DTA zwrócono uwagę na zwiększone ryzyko żylną choroby zakrzepowo - zatorowej (VTE – ang. Venous Thromboembolism). Obawy związane z ryzykiem zakrzepicy spowodowały redukcję dawki estrogenów do 30 μ g oraz nie do końca poznany wpływ mestranolu na funkcje wątroby wymusiły jego zmianę na EE^{15,28}.

Niekorzystny wpływ estrogenów zawartych w środkach antykoncepcyjnych znajduje odzwierciedlenie we wzroście ryzyka zawału serca i choroby zakrzepowej, odpowiednio 1,5 i 6 razy, przy dawce etynyloestradiolu >50 μ g. Dodatkowy wzrost ryzyka jest związany z wiekiem (powyżej 35 lat) oraz paleniem papierosów. Dzieje się tak, ponieważ składowa estrogenowa obniża poziom antytrombiny, powoduje podwyższenie stężenia fibrynogenu, zwiększenie agregacji płytek oraz wzrost stężenia witaminy K²⁹⁻³².

Dodanie grupy 17 α -etynyłowej w EE zwiększa jego doustną biodostępność, ma jednak negatywny wpływ na syntezę globulin wątrobowych, co może prowadzić do wzrostu ryzyka epizodów VTE. Innym sposobem na poprawę bezpieczeństwa i tolerancji DTA miałyby być opracowanie nowych preparatów, które byłyby podobne możliwie najbliższej naturalnych

hormonów płciowych. w teorii bowiem, zastosowanie estrogenów i gestagenów najlepiej imitujących profil endogennych hormonów, mogłoby mieć korzystny wpływ na hemostazę oraz metabolizm lipidów i węglowodanów^{20,21}. Pierwsze próby nie dały spodziewanych korzyści ze względu na słabą kontrolę cyklu³³. Późniejsze próby z zastosowaniem walerianianu estradiolu (EV) w połączeniu z nowym gestagenem – dienogestem wykazały, że preparat ten skutecznie hamuje owulację utrzymując jednocześnie satysfakcjonującą kontrolę krwawień³⁴. Obecnie jest również preparat złożony z E₂ i octanu nomegestrolu, również charakteryzujący się dużą skutecznością i dobrym profilem krwawień³⁵.

C. Rodzaje DTA

Większość stosowanych aktualnie doustnych środków antykoncepcyjnych jest jednofazowa, to znaczy, że zawiera jedną stałą dawkę EE i gestagenów przez cały cykl. Preparaty wielofazowe (dwu- i trójfazowe) zostały wprowadzone do użycia w latach 80-tych, by zmniejszyć ekspozycję na steroidy w trakcie 21 dni terapii oraz by możliwie najlepiej naśladować cykl naturalny. Charakteryzują się one wysoką skutecznością i pozwalają na bardzo dobrą kontrolę cyklu, jeśli są prawidłowo przyjmowane. Dwie meta-analizy pokazały jednak, że brakuje jednoznacznych dowodów wskazujących na istnienie wyraźnej przewagi preparatów wielofazowych nad jednofazowymi w kontekście bezpieczeństwa lub skuteczności, a schemat krwawień zależy w większym stopniu od rodzaju zastosowanego gestagenu niż fazowości leku^{36,37}.

Ostatnio coraz popularniejsze stają się schematy 24 + 4 skracające HFI lub całkowicie eliminujące przerwę hormonalną. Pozwalają one na utrzymanie wysokiej skuteczności antykoncepcyjnej przy zastosowaniu niskich dawek EE. Ich dodatkową zaletą jest brak lub skąpe krwawienia z odstawienia³⁸⁻⁴⁰.

D. Skuteczność antykoncepcji

Wśród regularnie współżyjących par niestosujących żadnej antykoncepcji w ciągu roku około 85% kobiet zajdzie w ciążę. Dostępnych jest wiele metod antykoncepcyjnych pozwalających regulować liczbę urodzeń, które cechują się dużą rozpiętością skuteczności. Do jednych z najbardziej skutecznych metod należy antykoncepcja hormonalna. Przy idealnym stosowaniu, skuteczność DTA w zapobieganiu ciąży wynosi ponad 99%. Do oceny skuteczności antykoncepcji wykorzystywany jest tzw. wskaźnik Pearla. Został on wprowadzony w 1932 roku przez Raymonda Pearla i w wielu badaniach klinicznych był najpowszechniej używanym narzędziem statystycznym do oceny niepowodzeń antykoncepcji⁴¹⁻⁴³. Podaje on ilość zapłodnień na 100 kobiet w ciągu roku korzystania z danej metody antykoncepcyjnej. Dodatkowo zwyczajowo podaje się dwie wartości tego wskaźnika: przy idealnym stosowaniu, który uwzględnia tylko ciążę powstałe w trakcie prawidłowego i ciągłego stosowania metody oraz przy typowym stosowaniu, który uwzględnia wszystkie ciążę, do których doszło w badanym okresie. Nieskuteczność antykoncepcji jest zatem zależna zarówno od metody jak i od użytkownika. Zgodnie z definicją ciąży, które występują w ciągu miesiąca prawidłowo stosowanej metody klasyfikowane są jako niepowodzenie metody, wszystkie inne ciążę wynikają z błędu użytkownika. Niepowodzenia metody nie mogą być wykazywane w czasie nieprawidłowego stosowania danej metody antykoncepcji, podobnie idealne użytkowanie wyklucza możliwość rozpoznania błędu użytkownika i kwalifikuje dane niepowodzenie do niepowodzeń zależnych o metody⁴². Od lat 60-tych wskaźnik Pearla spotyka się jednak z krytyką, ponieważ jest wyliczany na podstawie obserwacji próbki populacji. Badania różnych populacji, w zależności od kultury, demografii, edukacji seksualnej oraz instrukcji stosowania, mogą prowadzić do uzyskania różnych wartości wskaźnika dla tej samej metody antykoncepcyjnej⁴⁴. Czynnikiem mającymi wpływ na wskaźnik Pearla są również: liczba odbywanych stosunków płciowych, wiek kobiety, jej stan cywilny i długość trwania związku. Wskaźnik Pearla zakłada również błędnie, że jego wartość jest stała w czasie. Najbardziej płodne pary zajdą w ciążę najwcześniej, podczas gdy pary o obniżonej płodności będą pozostawać w badaniu najdłużej. Dodatkowo większość metod antykoncepcyjnych jest skuteczniejsza u bardziej doświadczonych par, tak więc im dłużej para będzie w badaniu, tym umiejętniej będzie ją stosowała. Wydłużając zatem czas badania, obniża się wartość wskaźnika Pearla. Jest on dość wiarygodny tylko w oszacowaniu ryzyka ciąży na rok i w sytuacji gdy odsetek ciąż w badaniu jest bardzo niski. Zaproponowano więc zastosowanie używanej w demografii tzw. metody „life tables”, która

szacuje prawdopodobieństwo wystąpienia jakiegoś zdarzenia i wyrażanie skuteczności antykoncepcji w procentach. Wartość tego wskaźnika jest wiarygodna zarówno w odniesieniu do miesiąca jak i roku trwania antykoncepcji ⁴⁵.

W przypadku DTA obserwuje się dość dużą rozbieżność między skutecznością przy idealnym i typowym użyciu. Odsetek niepożądanych ciąż wynosi odpowiednio 0,3% i 8% ⁴². Idealne stosowanie mówi o odsetku ciąż wśród kobiet, które stosowały daną metodę antykoncepcyjną bez jakichkolwiek błędów i uwzględnia jedynie miesiące lub cykle kiedy ta metoda była prawidłowo stosowana. W rzeczywistości najczęściej mamy do czynienia z typowym stosowaniem, które odzwierciedla odsetek wszystkich ciąż w trakcie badania i podczas wszystkich cykli, w trakcie których kobieta była narażona na zajście w ciążę. Najczęstsze błędy popełniane przez pacjentki podczas stosowania DTA to ominięcie lub opóźnienie dawki, przyjęcie złej tabletki z blistra przy preparatach wielofazowych lub przyjęcie tabletki placebo zamiast tabletki z substancją aktywną. Mogą wystąpić również sytuacje zmniejszające skuteczność antykoncepcji hormonalnej jak biegunki i wymioty lub konieczność zastosowania leków wpływających na farmakokinetykę steroidów płciowych np. antybiotyków, metoklopramidu lub leków przeciwpadaczkowych.

Z farmakokinetycznego punktu widzenia obserwuje się duże zróżnicowanie między pacjentkami zarówno w odniesieniu do EE jak i gestagenów, co budziło obawy o skuteczność DTA u otyłych kobiet, u których zmiany farmakokinetyki leku mogą prowadzić do niewystarczającej supresji przysadki i w konsekwencji owulacji ⁴⁶. Wyniki dotychczasowych prac nie są jednak jednoznaczne. W jednej z prac analizujących niskodawkową trójfazową DTA i niskodawkową jednofazową DTA zaobserwowano niewielki i statystycznie nieistotny wzrost wskaźnika Pearl'a wśród otyłych pacjentek w porównaniu do szczupłych ⁴⁷. Inne badania nie potwierdzają jednak większego odsetka niepowodzeń antykoncepcji u otyłych pacjentek. Porównanie dwóch jednofazowych preparatów w schemacie 21+7 wykazało porównywalny stopień hamowania czynności jajników zarówno u kobiet otyłych i z prawidłową wagą ⁴⁸. Podobny brak korelacji między masą ciała a odsetkiem ciąż podczas stosowania niskodawkowej terapii DTA wykazano w wydłużonym schemacie 91-dniowym ⁴⁹. Zaobserwowano natomiast znaczne różnice w wartości wskaźnika Pearl'a pomiędzy Europą a Stanami Zjednoczonymi, które wskazują na bardziej prawidłowe i systematyczne przyjmowanie DTA przez Europejki, które przypisywane jest lepszej edukacji ⁵⁰. Możliwe jednak, że jeszcze inne czynniki mogą mieć wpływ na tą różnicę i ponownie podnosi się hipotetyczny wpływ otyłości. Największa ilość niepowodzeń antykoncepcji w USA odnotowywana jest wśród Afroamerykanów, najmniejsza zaś wśród białych mieszkańców

Stanów Zjednoczonych ⁵¹. Brak skuteczności leczenia ściśle koreluje też z ubóstwem a to z kolei w USA jest związane z otyłością ⁵². Pamiętać jednak należy, że znaczna część danych dotycząca zawodności antykoncepcji opiera się na informacjach pozyskanych z klinik aborcyjnych. Do danych tych należy jednakże podchodzić z pewną dozą nieufności, ponieważ kobiety poddające się aborcji mogą chcieć zataić niekorzystanie z metod antykoncepcyjnych podając, że metoda antykoncepcyjna zawiodła.

E. Działania pozaantykonceptyjne doustnych środków antykoncepcyjnych.

W miarę upływu czasu i coraz lepszego poznawania właściwości hormonów płciowych zaczęto zwracać uwagę na tzw. pozaantykonceptyjne działania środków antykoncepcyjnych. Zalicza się do nich zmniejszenie utraty krwi w trakcie comiesięcznych krwawień a co za tym idzie zmniejszenie niedoborów żelaza i możliwość leczenia niedokrwistości. Środki te stosuje się także do leczenia bolesnego miesiączkowania, nieprawidłowych krwawień macicznych oraz zespołu napięcia przedmiesiączkowego. Można z ich pomocą w wydłużonym schemacie (np. 91-dniowym) wywołać stan całkowitego braku krwawień miesięczkowych, by w ten sposób w wybranych przypadkach podnieść jakość życia pacjentek. Doustne środki antykoncepcyjne znalazły również zastosowanie w zapobieganiu bólom głowy związanym z miesiączkami (trzeba jednakże pamiętać, że DTA są przeciwwskazane, jeżeli u pacjentki występuje migrena z aurą). Pacjentki stosujące DTA mają mniejsze ryzyko wystąpienia ciąży pozamacicznej, raka jajnika, raka endometrium (nawet 20 lat po zaprzestaniu stosowania DTA w porównaniu do pacjentek, które nigdy nie stosowały tego typu preparatów) oraz raka odbytnicy ⁵³⁻⁵⁵. DTA stosuje się w leczeniu endometriozy i zapobieganiu jej nawrotom. Ponadto w trakcie stosowania DTA obserwowano poprawę gęstości kości, poprawę w zakresie łagodzenia bólu w zespołach bólowych miednicy oraz u pacjentek leczonych z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów. Obserwowano, że środki te mają również pozytywny efekt na objawy perimenopauzalne ⁵⁶.

Z drugiej strony DTA może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem raka piersi, lecz wielkość i podłoże tego ryzyka nie jest do końca jasne. Zbiorcza analiza 54 badań obejmujących 53000 kobiet z rakiem piersi wykazała, że kobiety <35 r.ż. aktualnie przyjmujące DTA mają nieznacznie zwiększone ryzyko zlokalizowanego raka piersi (ryzyko względne –RR 1,24; 95% CI) w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano natomiast większego ryzyka raka piersi u kobiet, które zaprzestały pobieranie DTA co najmniej 10 lat przed badaniem (RR 1,01; 95% CI) ⁵⁷. Pojawiły się również obawy

o występowanie ewentualnej zależności pomiędzy DTA, infekcją wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV) i rakiem szyjki macicy. Zbiorcza analiza 8 badań wykazała, że ryzyko raka szyjki macicy jest statystycznie istotnie wyższe przy ponad 5-letnim stosowaniu DTA ⁵⁸. Jednak i w tym przypadku po 10 latach od zaprzestania przyjmowania DTA, ryzyko raka szyjki macicy spada do wartości porównywalnych jak u kobiet, które nigdy nie stosowały DTA ⁵⁹.

W trakcie ponad 50 lat od czasu wprowadzenia DTA przeszła wiele modyfikacji dawek, rodzajów hormonów oraz schematów przyjmowania preparatów. Zaobserwowano jednak, iż redukcja dawki estrogenów, minimalizująca ilość działań niepożądanych, może zmniejszać również supresję osi podwzgórze – przysadka – jajnik, zwłaszcza podczas HFI lub w przypadku pominięcia tabletki, co skutkuje większą aktywnością pęcherzykową jajników podczas stosowania antykoncepcji ⁶⁰.

III CEL PRACY

Celem przedstawionej pracy było porównanie w otwartym, prospektywnym badaniu porównawczym pięciu preparatów dwuskładnikowych doustnych tabletek antykoncepcyjnych różniących się dawką EE i rodzajem progestagenu na stan pęcherzyków jajnikowych i endometrium.

Cel realizowany był poprzez:

1. Porównanie wpływu 5 badanych preparatów antykoncepcyjnych na profil hormonalny i grubość endometrium w 3 kolejnych cyklach
2. Porównanie wpływu 5 badanych preparatów antykoncepcyjnych na ilość i wielkość pęcherzyków jajnikowych w 3 kolejnych cyklach

IV MATERIAŁ

Do badania zakwalifikowano 89 zdrowych kobiet w wieku od 18 do 45 lat (śr. 27 lat) z prawidłowym indeksem masy ciała (śr. 23 kg/m²), które zgłosiły się w celu uzyskania antykoncepcji do Poradni Ginekologicznej Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego przy ul. Polnej 33 w Poznaniu oraz Poradni Ginekologiczno-Położniczej „Specjalistki i Stomatologii” Sp. z o.o. Sp. k. w Środzie Wielkopolskiej ul. Wrzesińska 17. Każda pacjentka miała oceniane 3 kolejne cykle stosowania preparatu antykoncepcyjnego. Przeanalizowano 249 cykli z założonych 267 stosowania tabletki antykoncepcyjnej, w 18 cyklach pacjentki przerwały przyjmowanie antykoncepcji z powodów osobistych.

Kryteria włączające:

1. Pisemna zgoda na udział w badaniu
2. Regularny cykl miesięczkowy (26-34 dni)
3. Brak wykładników hiperandrogenizmu (hirsutyzm, trądzik)
4. Prawidłowy wynik badania cytologicznego z ostatnich 2 lat
5. Prawidłowy indeks masy ciała (20 – 25 kg/m²)

Kryteria wyłączające:

1. Choroby nowotworowe
2. Kliniczne objawy żylaków kończyn dolnych
3. Aktywna lub przebyta choroba zakrzepowo-zatorowa
4. Wrodzone lub nabyte koagulopatie
5. Niewyjaśnione krwawienia z dróg rodnych
6. Cholestaza wątrobową aktywna lub przebyta
7. Migrena z aurą w wywiadzie
8. Palenie papierosów w ciągu 12 miesięcy poprzedzających badanie

Badaną populację podzielono na pięć grup w zależności od typu stosowanego preparatu:

Grupa I – 51 cykli z zastosowaniem 0,03 mg EE + 0,075 mg gestodenu (GES)

Grupa II – 39 cykli z zastosowaniem 0,03 mg EE + 0,15 mg dezogestrelu (DSG)

Grupa III – 48 cykli z zastosowaniem 0,02 mg EE + 0,15 mg DSG

Grupa IV – 66 cykli z zastosowaniem 0,035 mg EE + 0,25 mg norgestymatu (NGS)

Grupa V – 45 cykli z zastosowaniem trójfazowego preparatu 0,03-0,04 mg EE + 0,05-0,125 mg levonorgestrelu (LNG)

Tabletki były przyjmowane raz dziennie o tej samej porze od 1. dnia cyklu (d.c.) do 21. d.c. z następującym potem 7-dniowym HFI.

Ogólne badanie fizykalne, ginekologiczne i ultrasonograficzne wykonano w Poradni Ginekologicznej Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego przy ul. Polnej 33 w Poznaniu oraz Poradni Ginekologiczno-Położniczej „Specjalistyki i Stomatologii” Sp. z o.o. Sp. k.w Środzie Wielkopolskiej ul. Wrzesińska 17, a oznaczenia hormonalne przeprowadzono w laboratoriach Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2011 – 2015. Wszystkie pacjentki były ocenione w każdym cyklu dwukrotnie: w 1-2. d.c oraz 20-21. d.c.

Na przeprowadzenie przedstawionych badań klinicznych uzyskano zgodę udzieloną przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu po przedstawieniu protokołu badania oraz formularza informacji i zgody pacjentki.

V METODY

Ocena kliniczna

Ocenę cykli miesięczkowych dokonano na podstawie obserwacji długości okresów pomiędzy krwawieniami menstruacyjnymi w ciągu ostatnich 12 miesięcy, przyjmując za rzadkie miesięczkowanie (*oligomenorrhoea*) długość cyklu miesięczkowego powyżej 34 dni a za częste miesięczki (*polimenorrhoea*) długość cyklu miesięczkowego poniżej 26 dni.

Dokonano oceny wykładników hirsutyzmu lub trądziku jako klinicznych cech hiperandrogenizacji oraz występowania ewentualnych objawów żyłaków kończyn dolnych. Ocenę hirsutyzmu przeprowadzono według zmodyfikowanej skali Ferriman-Gallwey'a. Nieprawidłowe owłosienie było oceniane w jedenastu następujących miejscach: wargi górna, broda, bokobrody, ramiona, górna część pleców, okolica lędźwiowa, gruczoły piersiowe, kresa biała, podbrzusze, krocze oraz uda w skali od 0 do 3 pkt. Hirsutyzm rozpoznawano jeśli punktacja wynosiła 8 lub więcej punktów.

Dokonano oceny wskaźnika masy ciała BMI (*body mass index*) obliczonego ze wzoru:

$$BMI = \frac{\text{masa ciała w kg}}{(\text{wzrost w m})^2}$$

Ocena ultrasonograficzna

Wykonano przezpochwową ultrasonografię aparatem Voluson 730 Expert z zastosowaniem głowicy IC 5-9H/OB. przy ustawieniach 7,5cm/27Hz. Zmierzone w dwóch wymiarach wszystkie pęcherzyki w obu jajnikach, określając ich liczbę i średnicę oraz zmierzono grubość błony śluzowej macicy.

Ocena hormonalna

Do oceny profilu hormonalnego oznaczono w surowicy krwi stężenia następujących parametrów (wartości referencyjne podane w nawiasach):

- FSH (faza folikularna: 3,5 – 12,5 mIU/ml)
- E₂ (12,5 – 166 pg/ml)

U każdej badanej pacjentki pobierano krew z żył przedramienia, na czczo w godzinach rannych (8.00 – 10.00) w ilości ok. 10 cm³. Po wytworzeniu skrzepu w temperaturze pokojowej krew wirowano z przyśpieszeniem 1500 g przez 5 min. Uzyskaną surowicę przelewano do jałowych probówek i przechowywano w temperaturze -70 °C do dalszych badań. Wszystkie badania przeprowadzono w 1-2. oraz w 20-21. d.c.

Stężenia FSH oznaczono tzw. metodą kanapkową za pomocą analizatora Elecsys 2010 firmy Roche Diagnostics. Metoda ta wykorzystuje dwa przeciwciała monoklonalne specyficznym skierowane przeciwko wymienionym ludzkim hormonom. W procesie pomiaru zastosowano dwie inkubacje. W pierwszej surowica jest umieszczana z przeciwciałem znakowanym biotyną i kompleksem rutenu, aby powstał kompleks kanapkowy. W drugiej inkubacji dodawane są mikrocząsteczki pokryte streptawidyną, która powoduje wiązanie kompleksu z fazą stałą poprzez interakcje biotyny ze streptawidyną. Mieszanina reakcyjna jest aspirowana do komory pomiarowej, gdzie mikrocząsteczki pod wpływem oddziaływań magnetycznych pokrywają elektrodę. Następnie dokonywany jest pomiar emisji chemiluminescencyjnej wywoływanej przyłożeniem napięcia do elektrody, po usunięciu niezwiązanych cząsteczek. Wyniki są automatycznie przeliczane za pomocą dwupunktowej kalibracji. Czułość testu dla FSH wynosi 0,1 mIU/ml.

Stężenia osoczowe E₂ oznaczono metodą kompetycyjną. W procesie pomiaru wykorzystuje się również dwie inkubacje. Podczas pierwszej surowica jest umieszczana ze specyficznym przeciwciałem znakowanym biotyną w celu uformowania immunokompleksu, a w drugiej dodawane są mikrocząsteczki znakowane streptawidyną. Pochodne tworzą kompleks rutenowy, podczas gdy wolne miejsca biotynylowanego przeciwciała zostają zajęte przez kompleks przeciwciała – haptenu. Interakcje biotyny ze streptawidyną umożliwiają wiązanie powstałego kompleksu z fazą stałą. Analogicznie do poprzedniej metody mieszanina

reakcyjna jest aspirowana do komory pomiarowej, gdzie mikrocząsteczki pod wpływem oddziaływań magnetycznych pokrywają elektrodę. Następnie dokonywany jest pomiar emisji chemiluminescencyjnej wywoływanej przyłożeniem napięcia do elektrody, po usunięciu niezwiązanych cząsteczek. Czulość testu dla E₂ wynosi 5 pg/ml.

Analiza statystyczna

Uzyskane wartości analizowanych parametrów zostały przedstawione jako średnie arytmetyczne wraz z odchyleniem standardowym ($\bar{X} \pm SD$). Do obliczeń statystycznych przeprowadzono test jednorodności wariancji Browna-Forsythe'a a następnie analizę wariancji ANOVA i porównania „*post-hoc*” testem Newman-Keulsa . Za istotne statystycznie uznano różnice wartości przy $p < 0,05$. Do obliczeń wykorzystano program Statistica firmy StatSoft Inc.

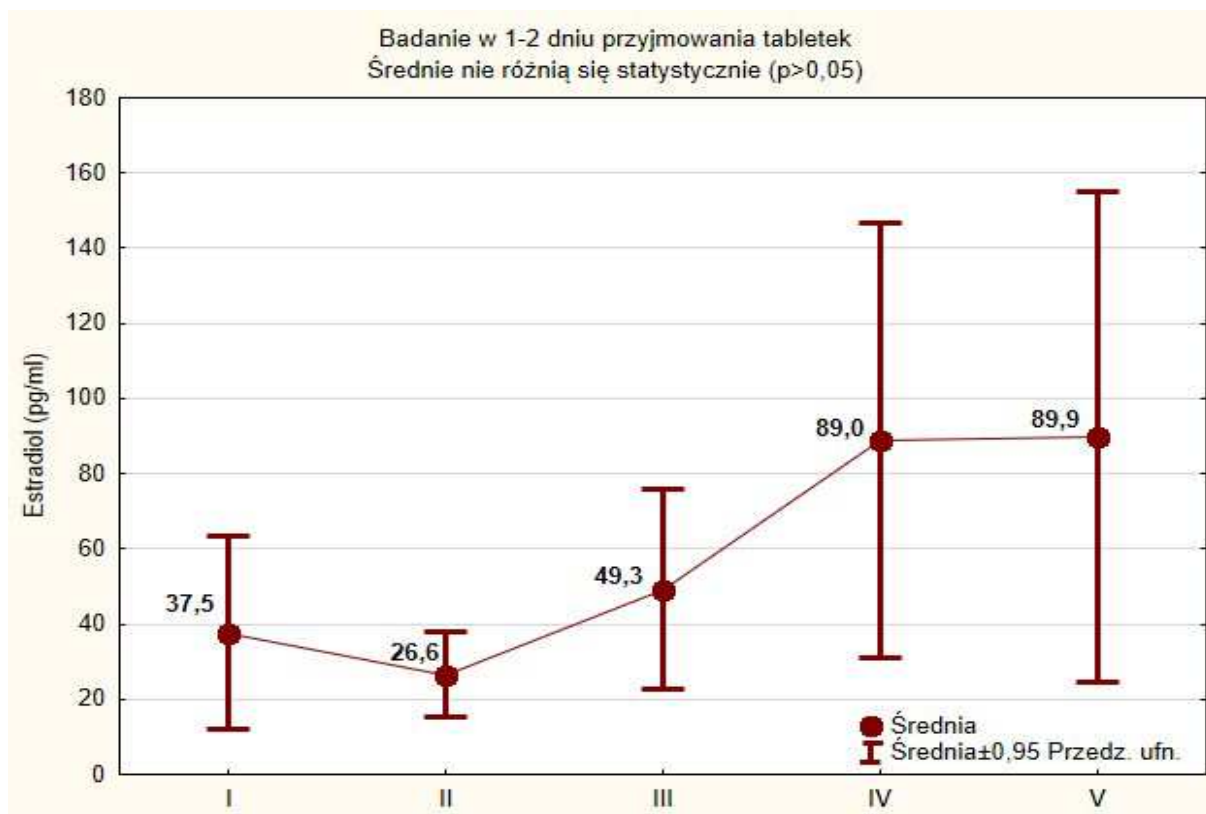
VI WYNIKI

Do badania zakwalifikowano 89 pacjentek, które przyjmowały preparat antykoncepcyjny przez kolejne 3 cykle. Analizą objęto wszystkie ukończone cykle leczenia, ogółem 249 cykli

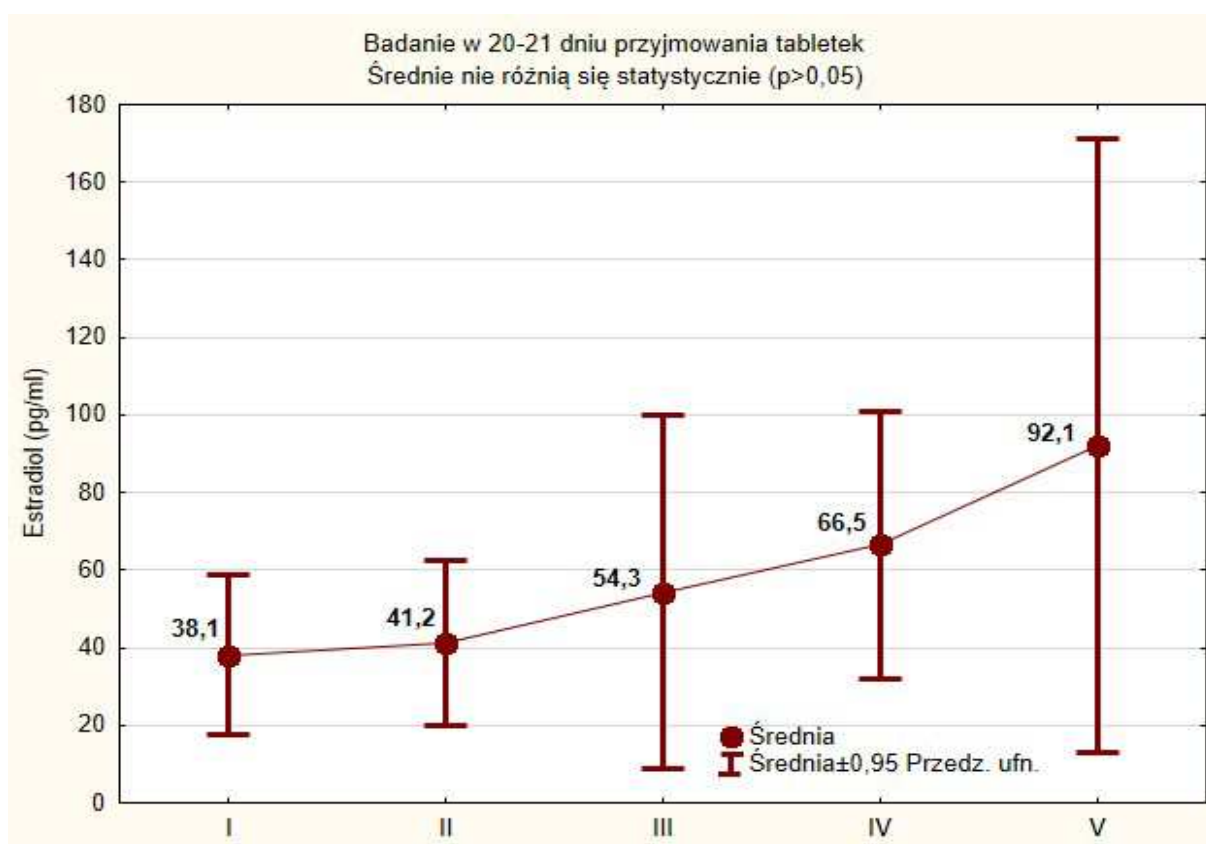
PARAMETRY ENDOKRYNOLOGICZNE

1) Ocena wpływu DTA na średnie osoczowe stężenia estradiolu.

Najwyższe średnie stężenia estradiolu w 1-2. dc. zaobserwowano w grupie IV i V odpowiednio 89 i 89,9 pg/ml, podczas gdy w grupie I wyniosły 37,5 pg/ml, w grupie II 26,6 pg/ml, a w grupie III 49,3 pg/ml (Ryc.1). W 20-21. d.c. średnie stężenia estradiolu wynosiły w grupie I 38,1 pg/ml, w II 41,2 pg/ml, w III 54,3 pg/ml, w IV 66,5 pg/ml. Najwyższe zaś były ponownie w grupie V 92,1 pg/ml (Ryc.2). Różnice te jednak nie były istotne statystycznie.



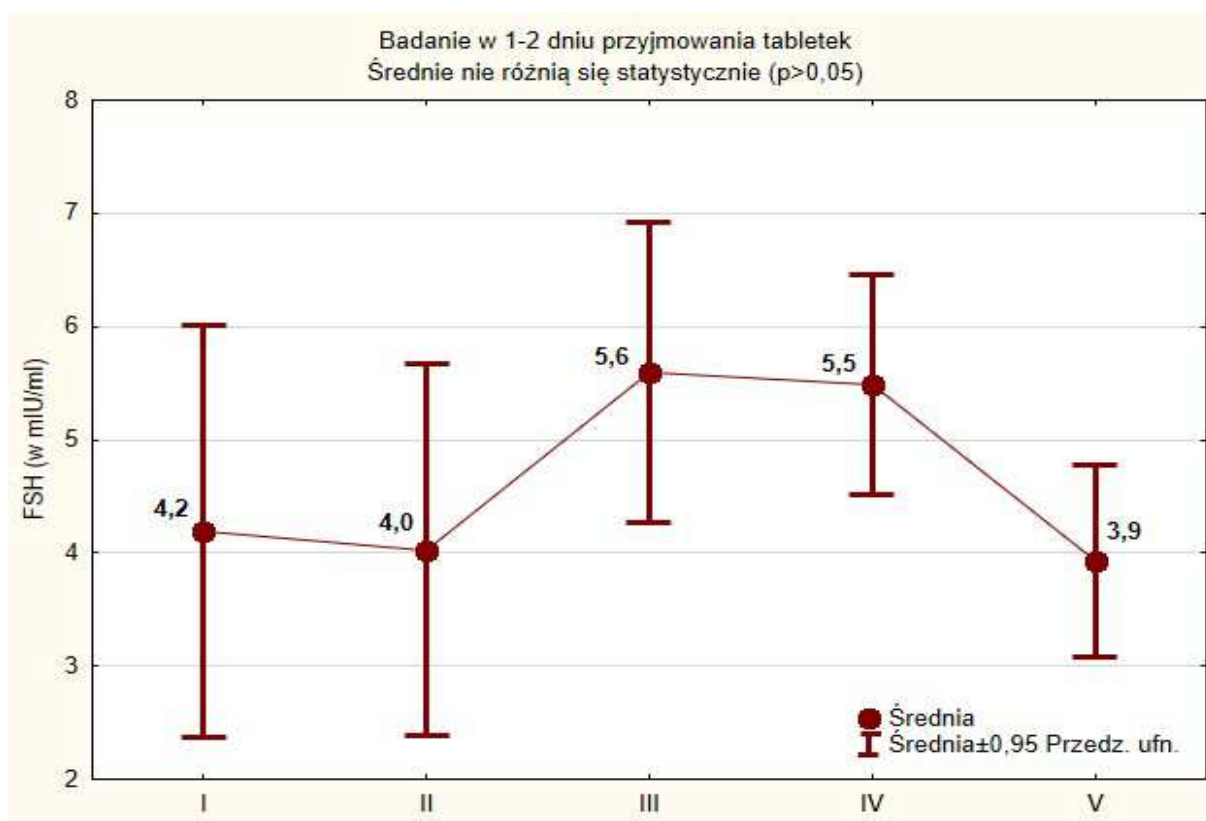
Ryc.1. Porównanie pomiędzy grupami średnich stężeń estradiolu w 1-2. d.c.



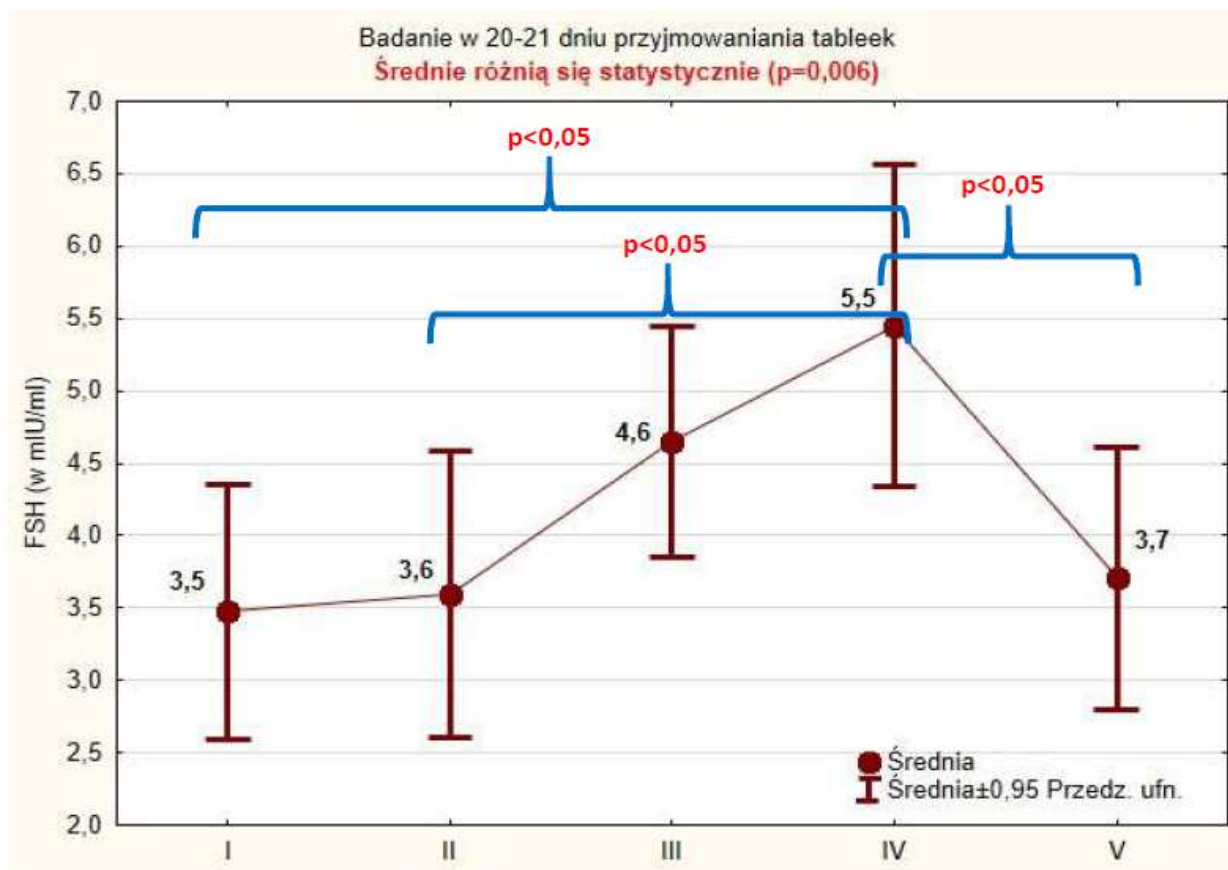
Ryc.2. Porównanie pomiędzy grupami średnich stężeń estradiolu w 20-21. d.c.

2) Ocena wpływu DTA na średnie osoczowe stężenia FSH.

W przypadku FSH, w 1-2 dc. stężenia tego hormonu w grupach I, II i V były nieco niższe (odpowiednio 4,2; 4,0 i 3,9 mIU/ml) niż w grupach III 5,6 i IV 5,5 pg/ml, lecz bez istotności statystycznej (Ryc.3). Natomiast średnie stężenie FSH w 20-21. dc. w IV grupie (5,5 mIU/ml) istotnie przewyższało średnie stężenia FSH w grupach I (3,5 mIU/ml), II (3,6 mIU/ml) i V (3,7 mIU/ml). Było również wyższe od stężenia w grupie III (4,6 mIU/ml), lecz w tym przypadku bez istotności statystycznej (Ryc.4).



Ryc.3. Porównanie pomiędzy grupami średnich stężeń FSH w 1-2. d.c.

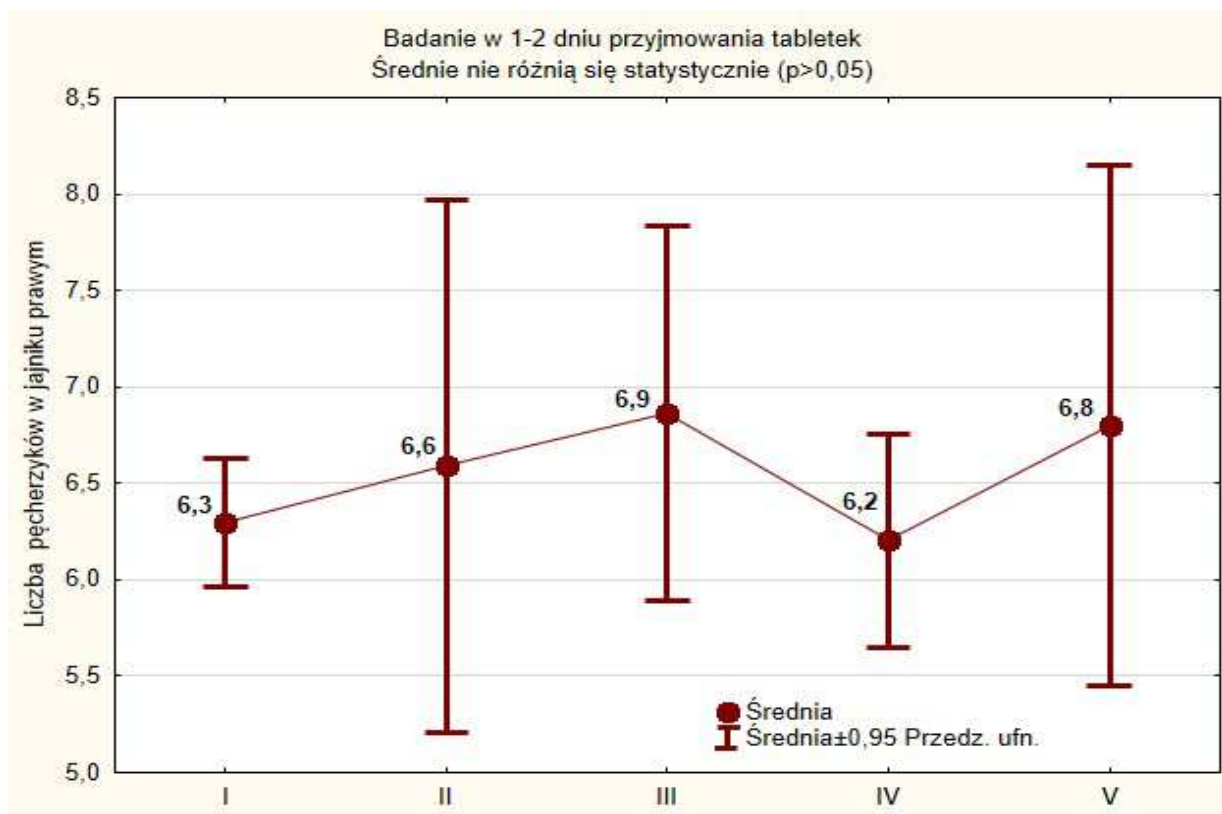


Ryc.4. Porównanie pomiędzy grupami średnich stężeń FSH w 20-21. d.c.

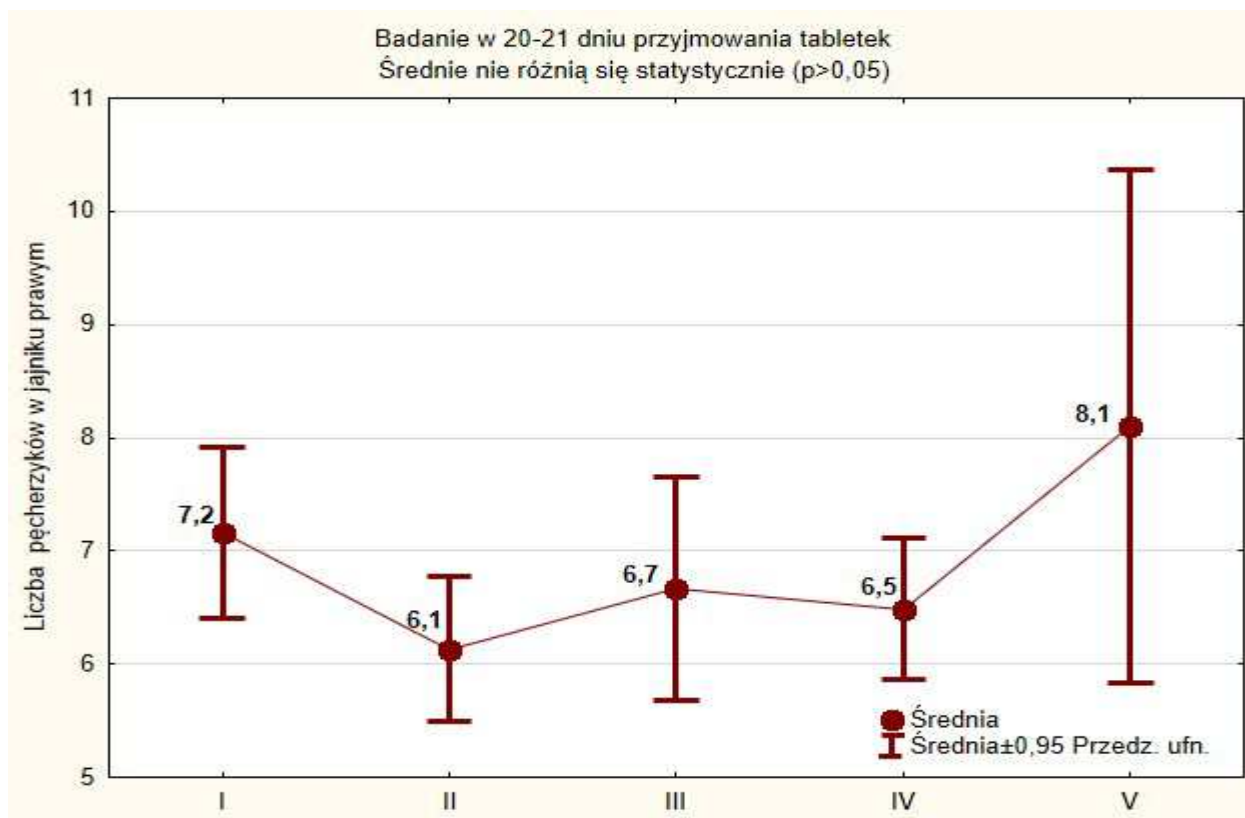
PARAMETRY ULTRASONOGRAFICZNE

1) Ocena wpływu DTA na średnią liczbę pęcherzyków w jajnikach.

Poddano ocenie liczbę pęcherzyków jajnikowych. W 1-2. dc. największą ich liczbę w jajniku prawym stwierdzono w grupie III (6,9 pęcherzyka) i w V (6,8 pęch.), a nieco niższe wartości w pozostałych grupach (w I – 6,3 pęch., w II – 6,6 pęch. i w IV 6,2 pęch.) (Ryc.5). W 20-21. d.c. średnia liczba pęcherzyków w V grupie (8,1 pęch.) była znacznie wyższa niż w pozostałych grupach (I – 7,2 pęch., II – 6,1 pęch., III – 6,7 pęch., IV 6,5 pęch.) (Ryc.6). Różnice te jednak zarówno w 1-2. d.c. jak i 20-21. d.c. nie były istotne statystycznie.



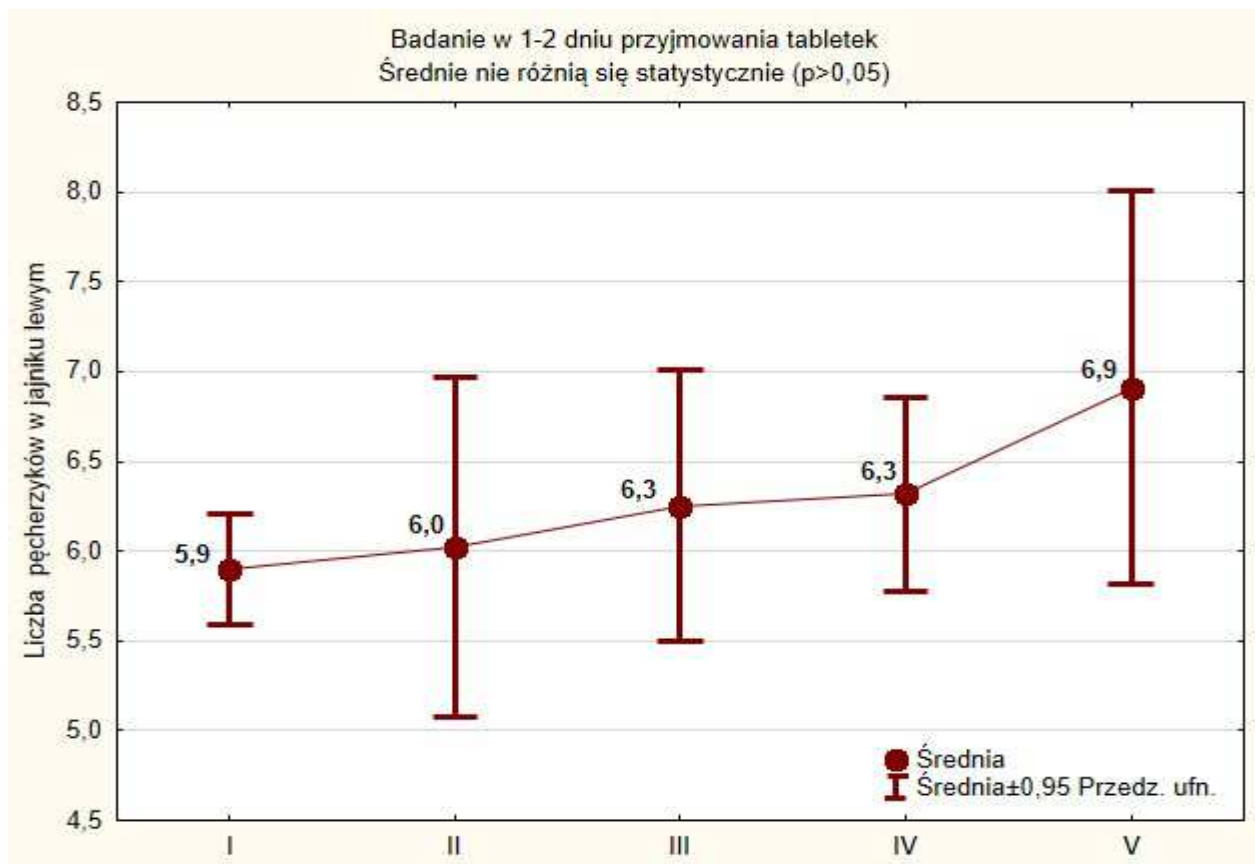
Ryc.5. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków w jajniku prawym w 1-2.d.c.



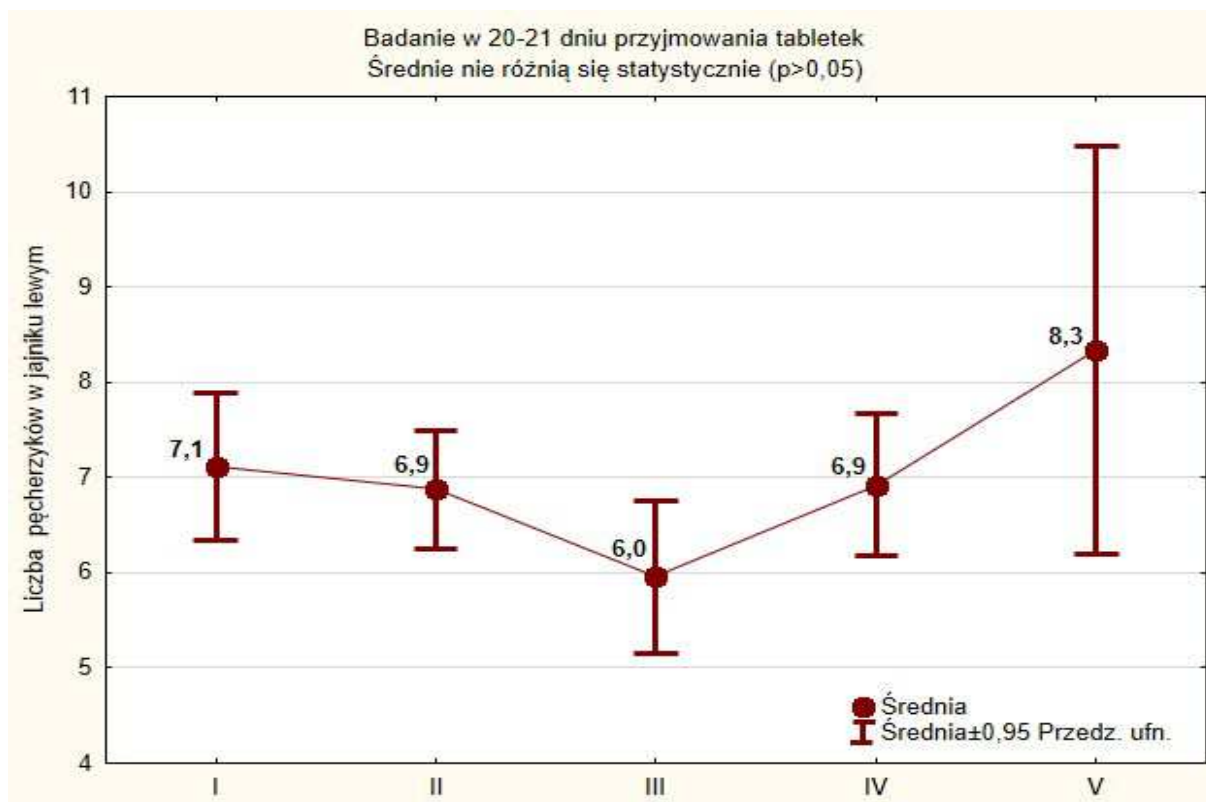
Ryc.6. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków w jajniku prawym w 20-21.d.c.

Największą średnią liczbę pęcherzyków w jajniku lewym w 1-2. d.c. zanotowano w grupie V (6,9 pęch.), podczas gdy w pozostałych grupach liczba pęcherzyków była nieznacznie niższa: w I – 5,9, II – 6,0 oraz w III i IV – 6,3 pęch. (Ryc.7). Podobne wyniki zaobserwowano w 20-21. d.c.: w grupie I – 7,1 pęch., II – 6,9 pęch., III - 6,0 pęch., IV – 6,9 pęch. i ponownie największą ich liczbę w V grupie 8,3 pęch. (Ryc.8). Różnice nie były statystycznie istotne.

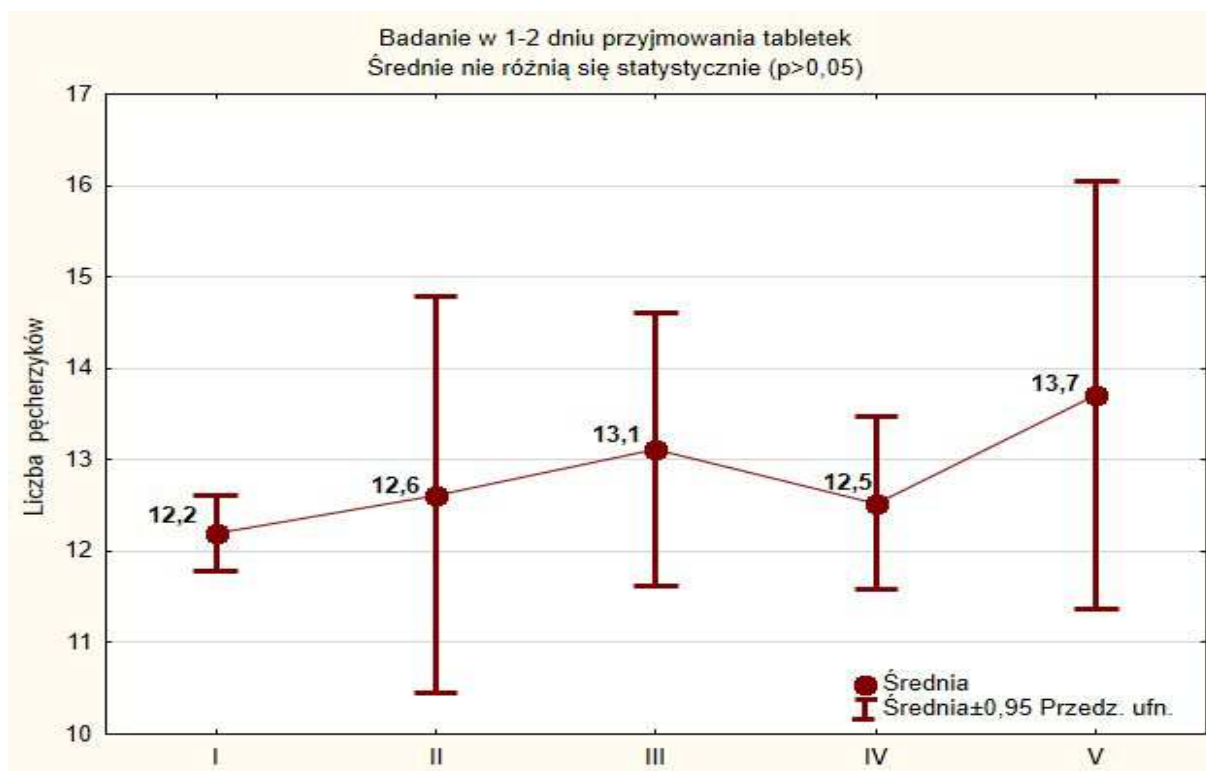
Porównanie średniej liczby pęcherzyków w obu jajnikach w 1-2. d.c. wykazało największą ich liczbę w grupie V – 13,7 pęch. oraz nieznacznie niższe wartości w pozostałych grupach: w I – 12,2, II – 12,6, III – 13,1 i w IV 12,5 pęch. (Ryc.9). W 20-21. d.c. średnia liczba pęcherzyków w grupie V była wyraźnie wyższa (16,4 pęch.) od pozostałych grup (I – 14,3 pęch., II – 13,0 pęch., III - 12,6 pęch., IV – 13,4 pęch.), lecz i tym razem różnice te nie były statystycznie istotne (Ryc.10).



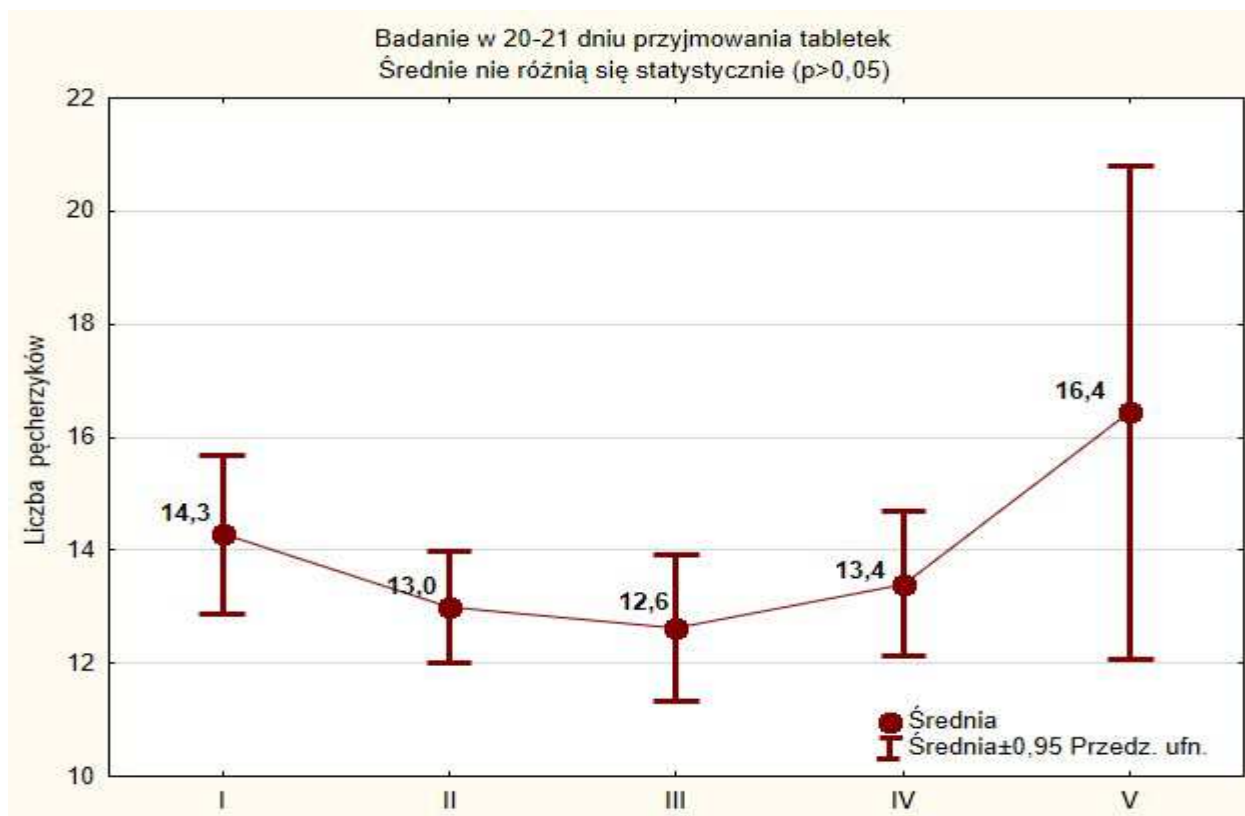
Ryc.7. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków w jajniku lewym w 1-2.d.c.



Ryc.8. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków w jajniku lewym w 20-21. d.c.



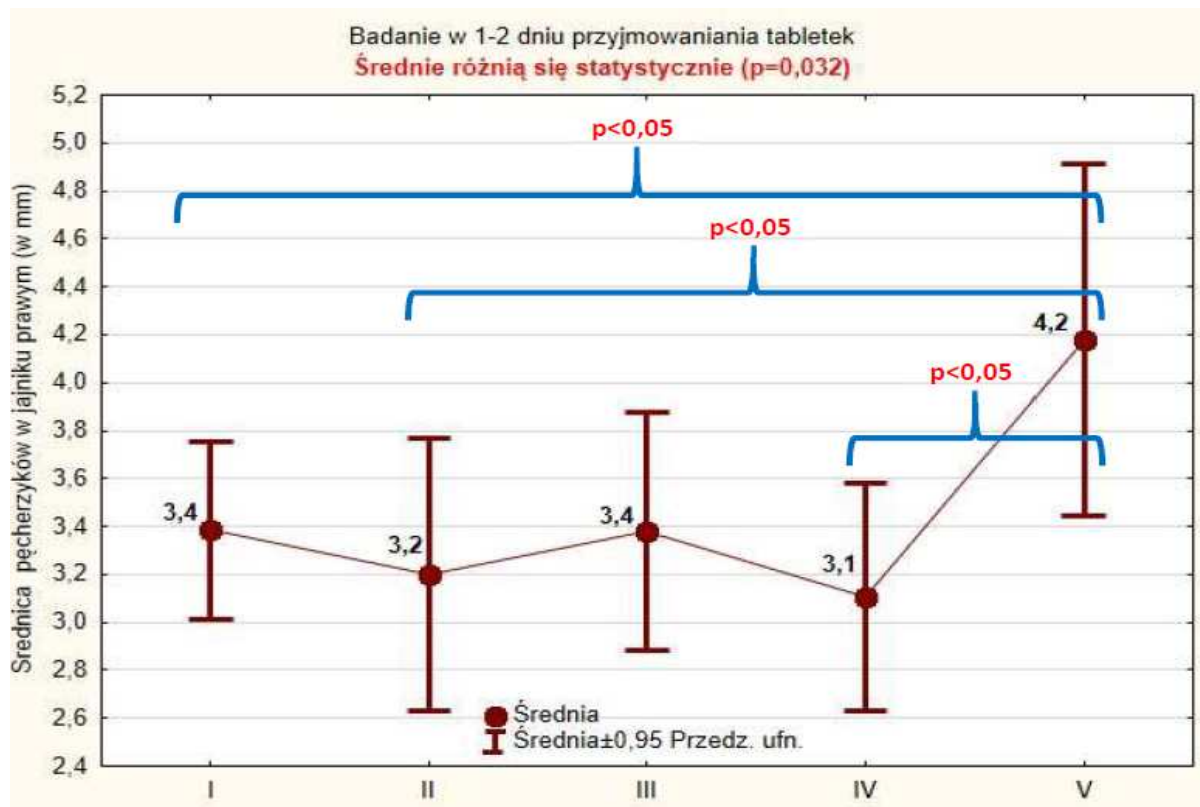
Ryc.9. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków w obu jajnikach w 1-2. d.c.



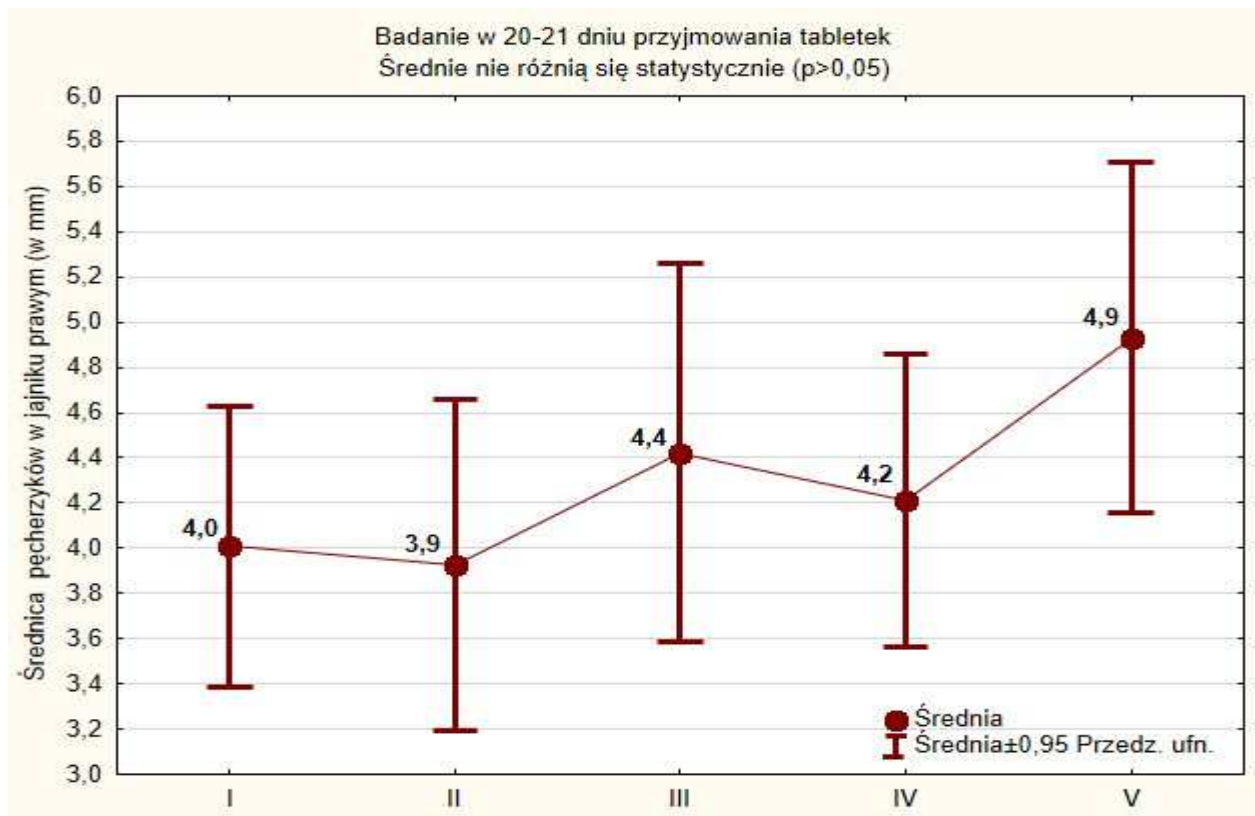
Ryc.10. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków w obu jajnikach w 20-21. d.c.

2) Ocena wpływu DTA na średnią średnicę pęcherzyków w jajnikach.

Kolejnym ocenianym parametrem był pomiar średniej średnicy pęcherzyków w jajnikach. W 1-2. d.c. największą średnicę pęcherzyków w jajniku prawym zmierzono w grupie V (4,2 mm), która statystycznie istotnie różniła się od średnich średnic pęcherzyków w grupach I, II i IV (odpowiednio 3,4 mm, 3,2 mm i 3,1 mm). W grupie III średnia średnica wyniosła 3,4 mm (Ryc.11). W 20-21. d.c. ponownie średnia średnica pęcherzyków w jajniku prawym była największa w grupie V (4,9 mm) w porównaniu do pozostałych grup (I – 4,0 mm, II - 3,9 mm, III – 4,4 mm, IV – 4,2 mm). Tym razem różnica ta nie była statystycznie istotna (Ryc.12).

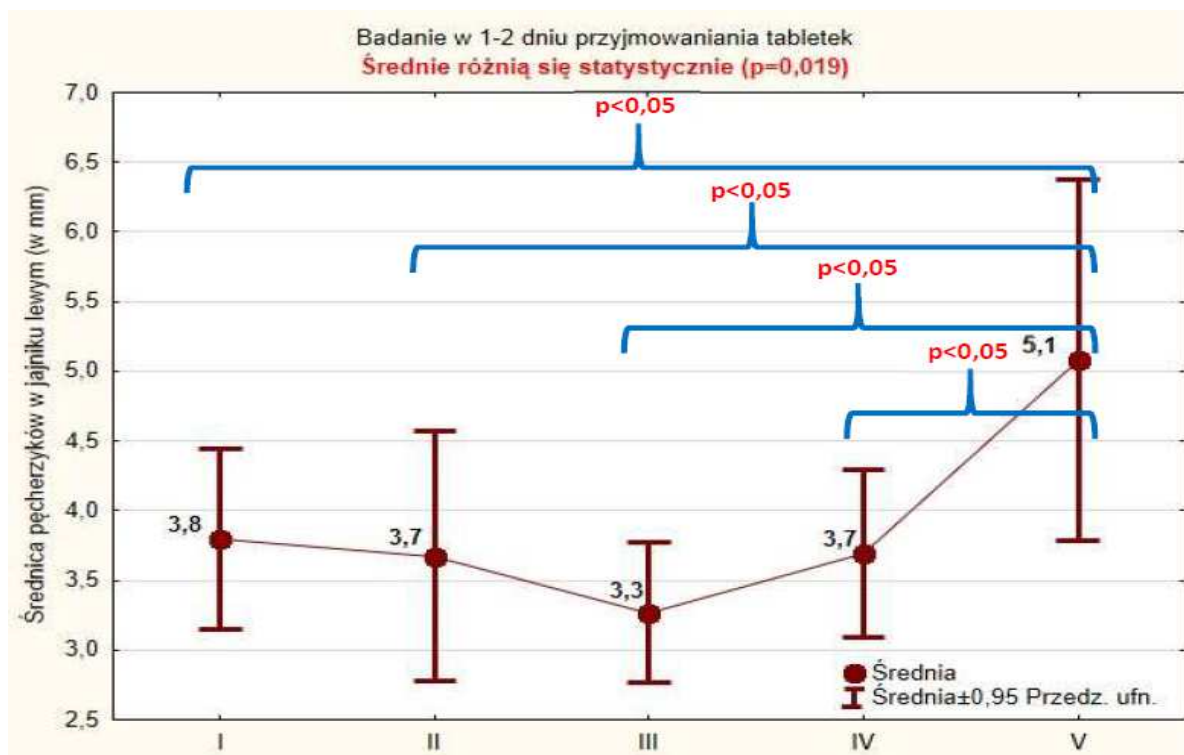


Ryc.11. Porównanie pomiędzy grupami średniej średnicy pęcherzyków w jajniku prawym w 1-2. d.c.

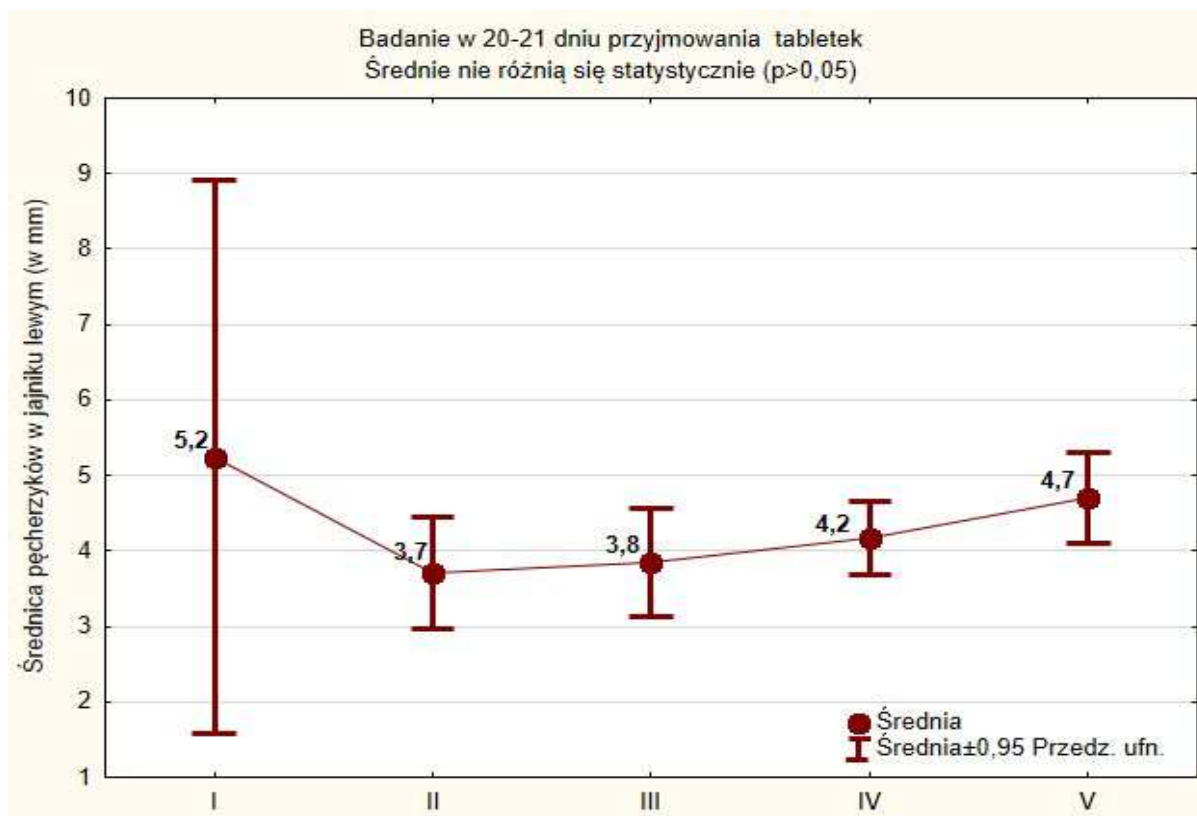


Ryc.12. Porównanie pomiędzy grupami średniej średnicy pęcherzyków w jajniku prawym w 20-21. d.c.

W jajniku lewym w 1-2. d.c. średnia średnica pęcherzyków w grupie V była najwyższa (5,1 mm) i różnica ta była statystycznie istotna w stosunku do wszystkich pozostałych grup (I – 3,8 mm, II – 3,7 mm, III - 3,3 mm, IV – 3,7 mm) (Ryc.13). W 20-21. d.c. średnia średnica pęcherzyków w jajniku lewym w grupie I była wyższa (5,2 mm) niż w pozostałych grupach (II – 3,7 mm, III – 3,8 mm, IV – 4,2 mm, V – 4,7 mm). Różnice jednak nie były istotne statystycznie (Ryc.14).

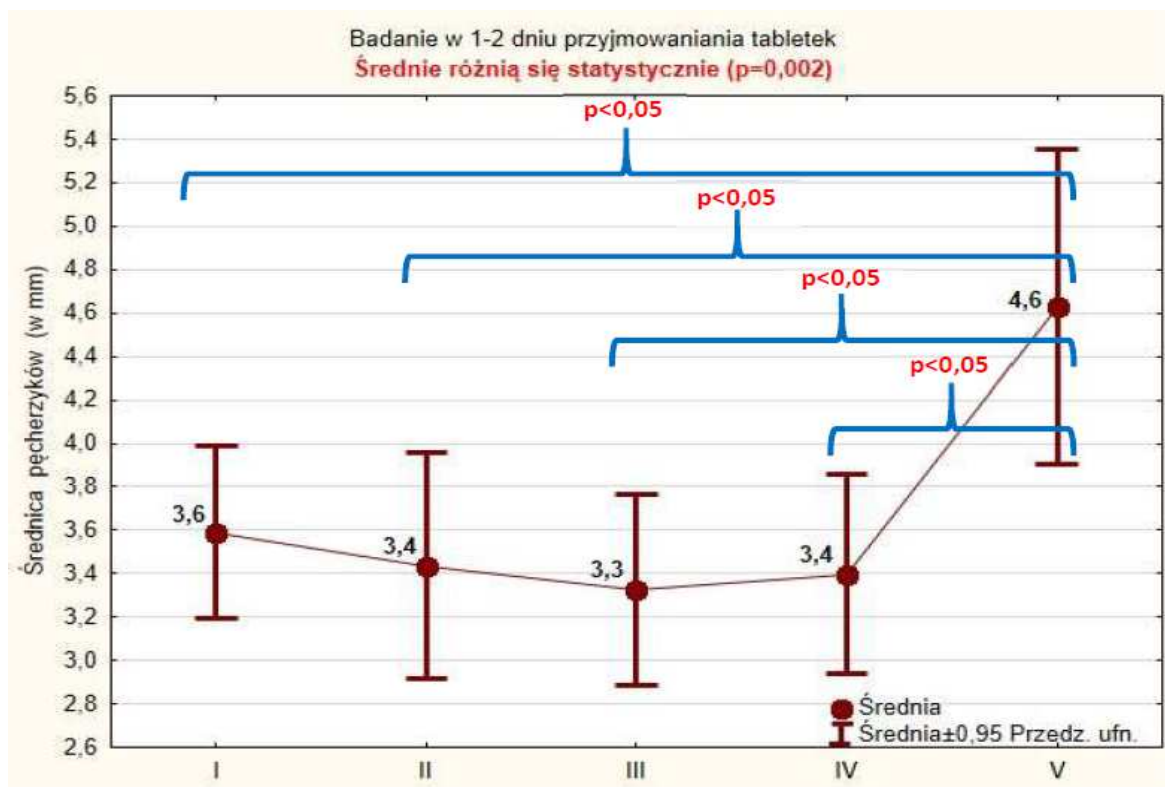


Ryc.13. Porównanie pomiędzy grupami średnich średnic pęcherzyków w jajniku lewym w 1-2. d.c.

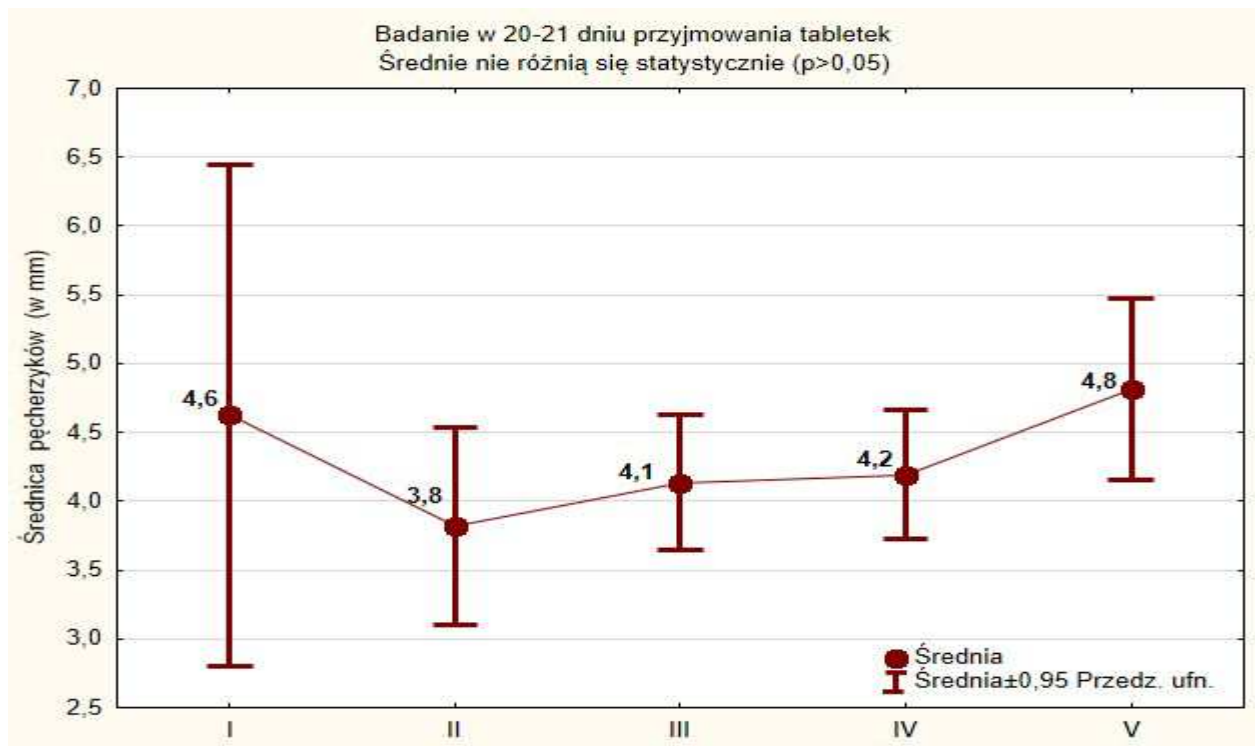


Ryc.14. Porównanie pomiędzy grupami średnich średnic pęcherzyków w jajniku lewym w 20-21. d.c.

Porównanie średniej średnicy pęcherzyków w obu jajnikach w 1-2. d.c. wykazało, że istotnie wyższa była ona w grupie V (4,6 mm) w porównaniu do wszystkich pozostałych grup (I – 3,6 mm, II – 3,4 mm, III – 3,3 mm, IV – 3,4 mm) (Ryc.15). Również w 20-21. d.c. średnia średnica pęcherzyków w obu jajnikach najwyższa w grupie V (4,8 mm). Średnie średnice w pozostałych grupach wyniosły: I – 4,6 mm, II – 3,8 mm, III – 4,1 mm, IV – 4,2 mm. Tym razem różnica ta nie była statystycznie istotna (Ryc. 16).

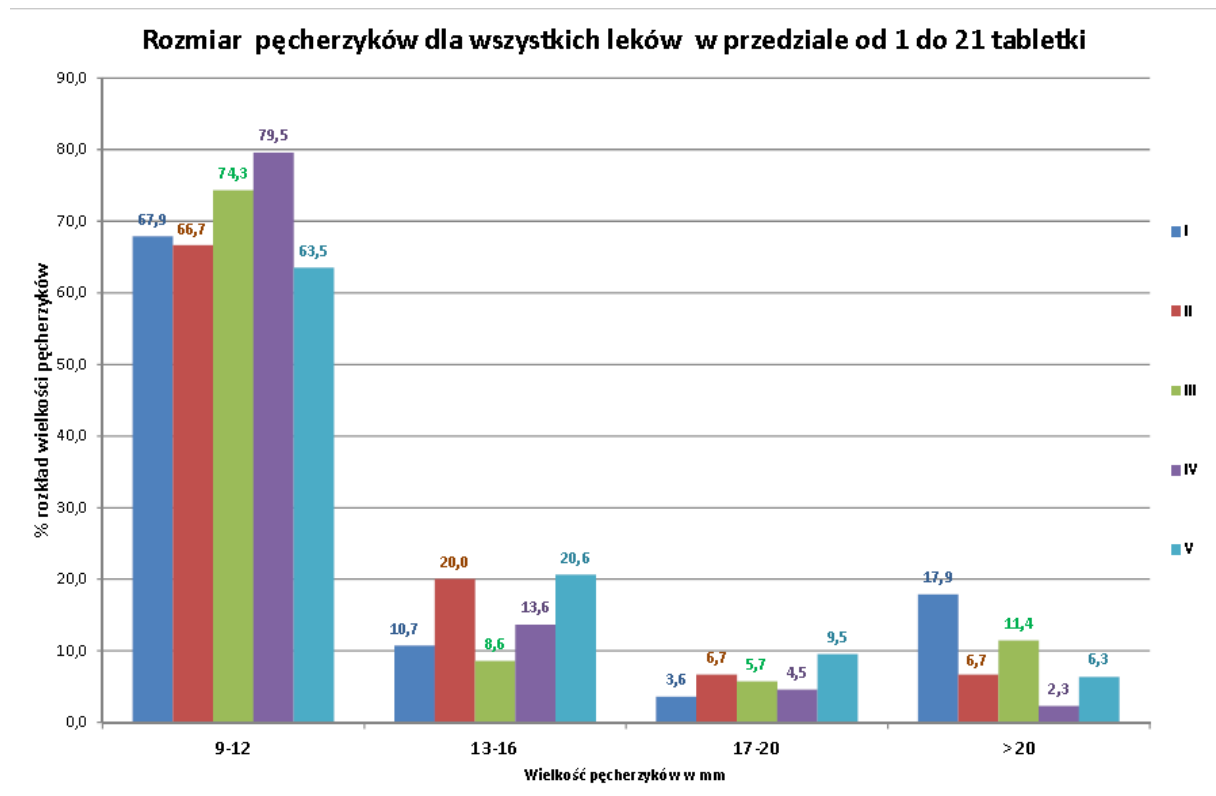


Ryc.15. Porównanie pomiędzy grupami średnich średnic pęcherzyków w obu jajnikach w 1-2. d.c.

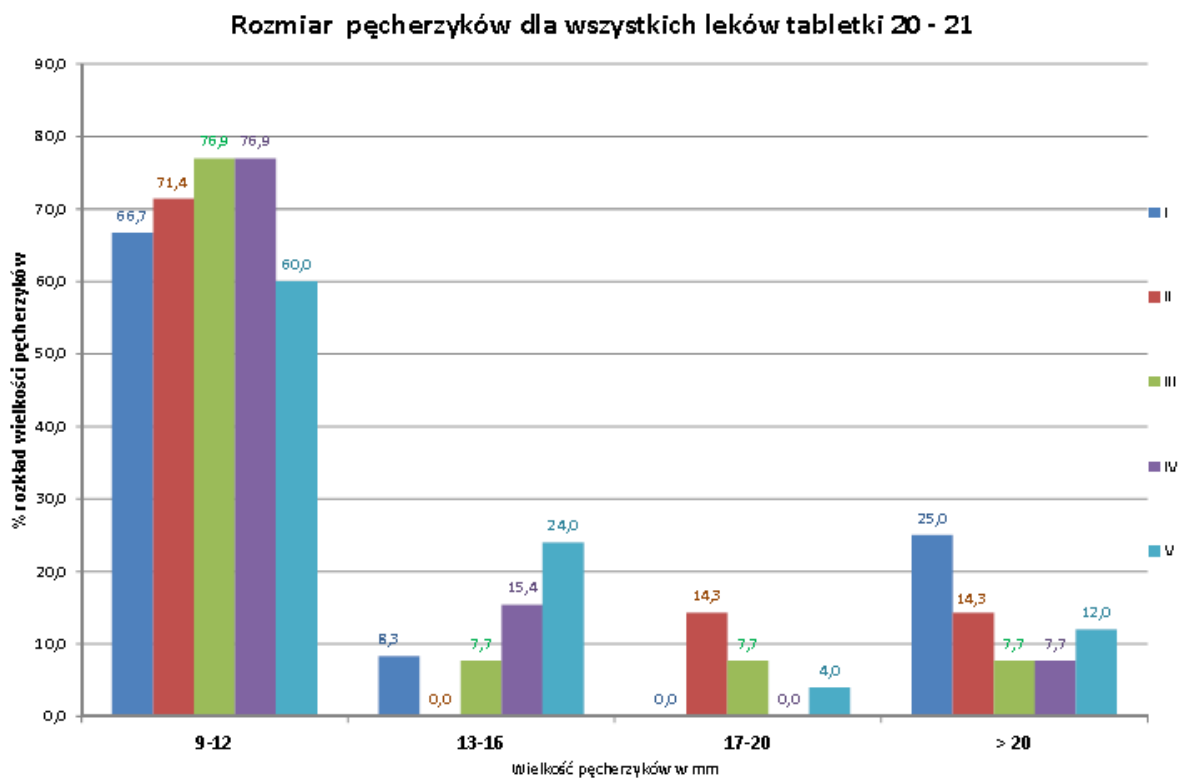


Ryc.16. Porównanie pomiędzy grupami średnich średnic pęcherzyków w obu jajnikach w 20-21. d.c.

Zbadano również procentowy rozkład średnicy pęcherzyków w poszczególnych grupach. Małe pęcherzyki (od 9 do 12 mm) w 1-2. d.c. stanowiły ponad 60 % pęcherzyków we wszystkich grupach. Średnich pęcherzyków (dwie podgrupy od 13 do 16 mm oraz od 17 do 20 mm) stwierdza się najwięcej w grupie V. Największy procentowy udział dużych pęcherzyków (> 20 mm) występował w grupie I – 17,9% (Ryc.17). W 20-21. d.c. pęcherzyki o średnicy od 9 – 12 mm również stanowiły co najmniej 60% wszystkich pęcherzyków w każdej z grup. Największy odsetek pęcherzyków wielkości od 13 – 16 mm występował w grupie V, zaś pęcherzyków od 17 – 20 mm w grupie II. Największą reprezentację dużych pęcherzyków (> 20 mm) stwierdzono ponownie w grupie I – aż 25% (Ryc.18).



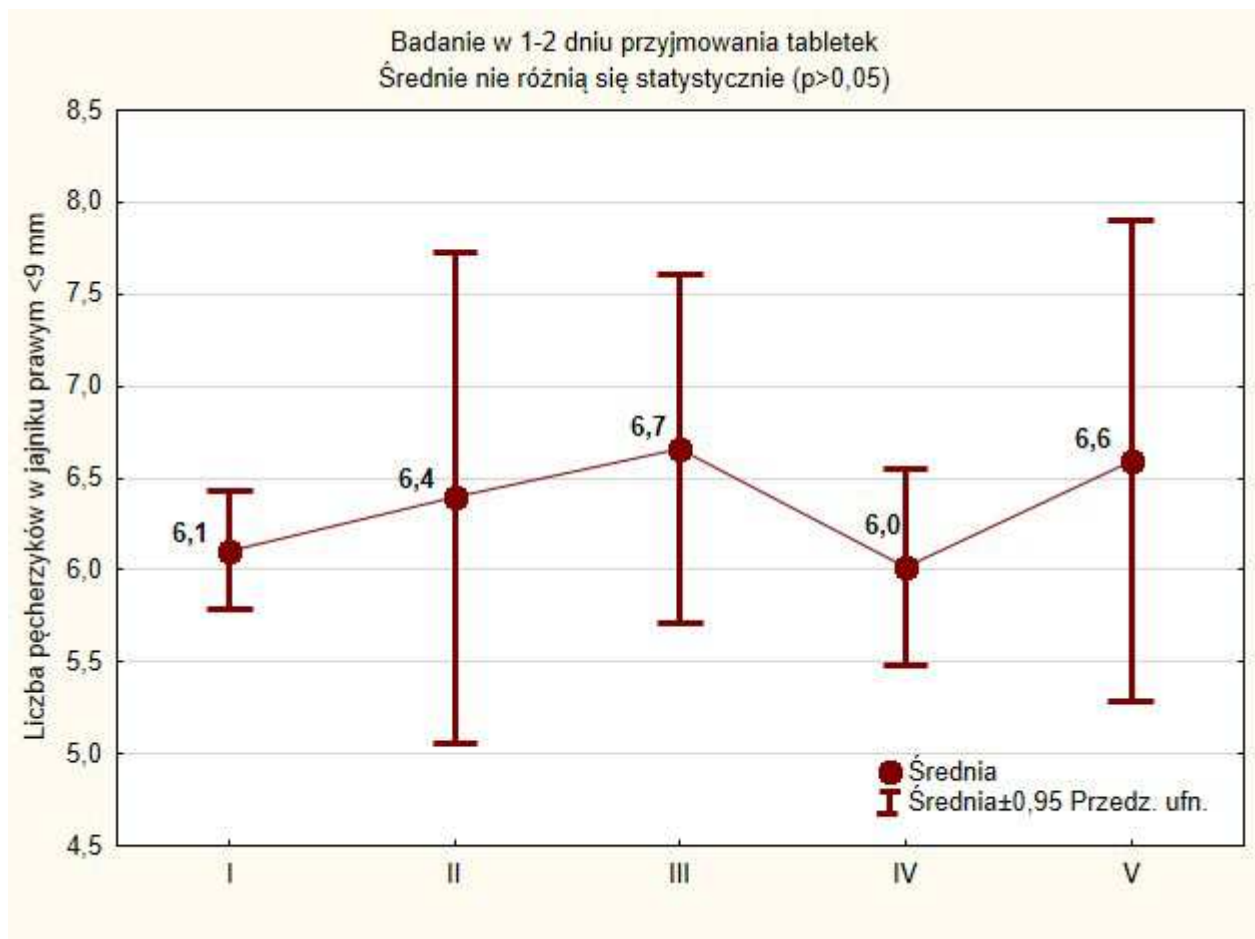
Ryc.17. Rozkład procentowy różnej wielkości pęcherzyków w poszczególnych grupach w 1-2. d.c.



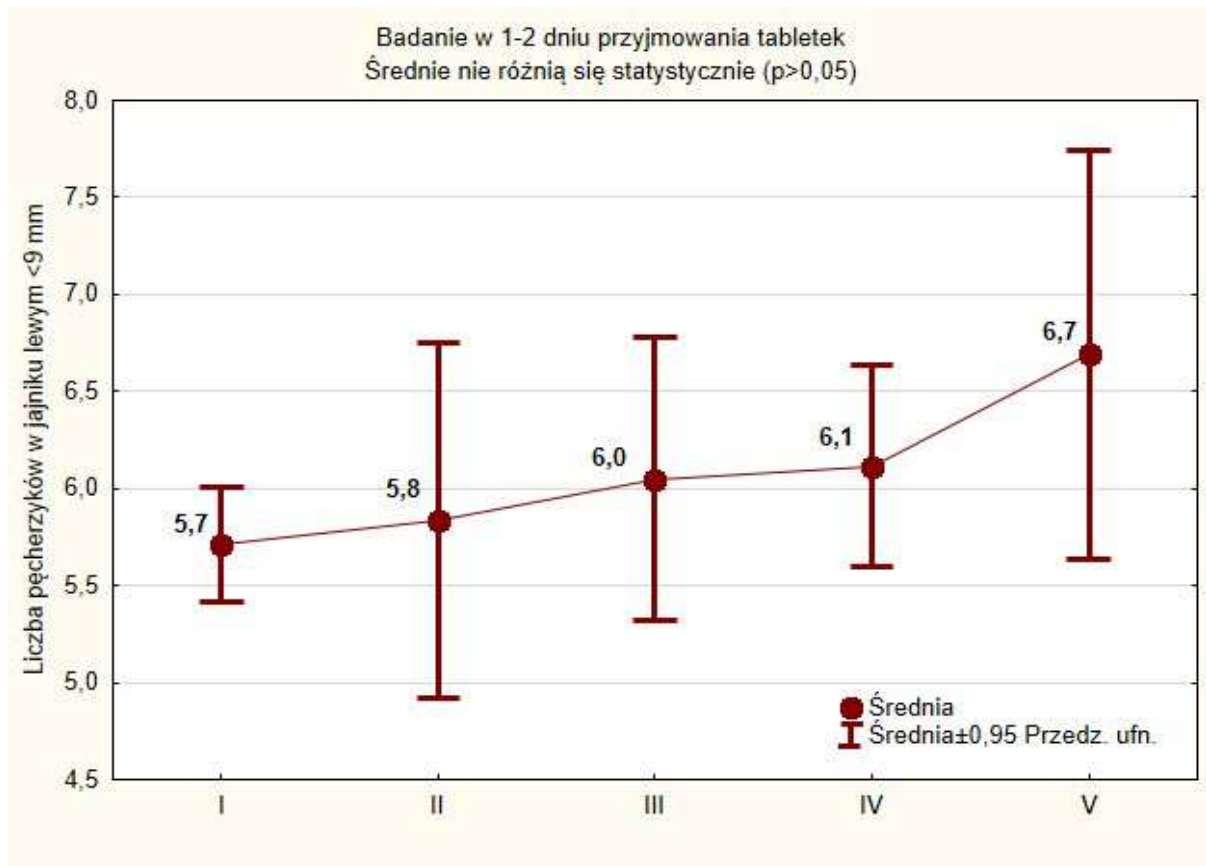
Ryc.18. Rozkład procentowy różnej wielkości pęcherzyków w poszczególnych grupach w 20-21. d.c.

3) Ocena wpływu DTA na średnią liczbę pęcherzyków ≤ 9 mm w jajnikach.

Przeprowadzono również analizę liczby pęcherzyków w jajnikach z uwzględnieniem podziału na pęcherzyki mniejsze niż 9 mm oraz większe od 9 mm. Największa średnia liczba pęcherzyków ≤ 9 mm w 1-2 d.c. w jajniku prawym była w grupie III (6,7 pęch.), nieznacznie mniejsza w grupie V (6,6 pęch.) oraz jeszcze mniejsza w grupie I, II i IV (odpowiednio 6,1 pęch., 6,4 pęch. i 6,0 pęch.) (Ryc. 19). W tym samym dniu oceny w jajniku lewym największa liczba pęcherzyków ≤ 9 mm była w grupie V - 6,7 pęch. W pozostałych grupach wartości te były mniejsze: I – 5,7 pęch., II – 5,8 pęch., III – 6,0 pęch. i IV – 6,1 pęch. (Ryc.20). Różnice nie były statystycznie istotne.

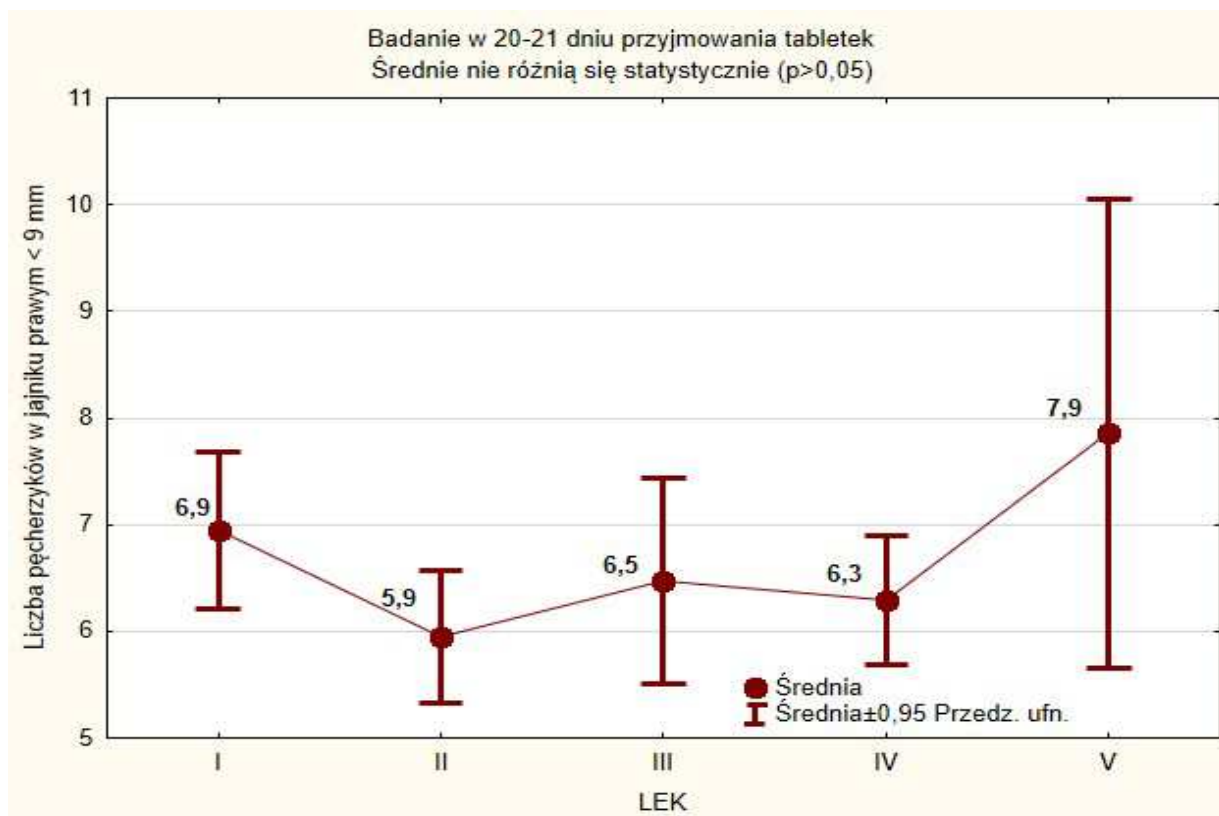


Ryc.19. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków ≤ 9 mm w jajniku prawym w 1-2.d.c.

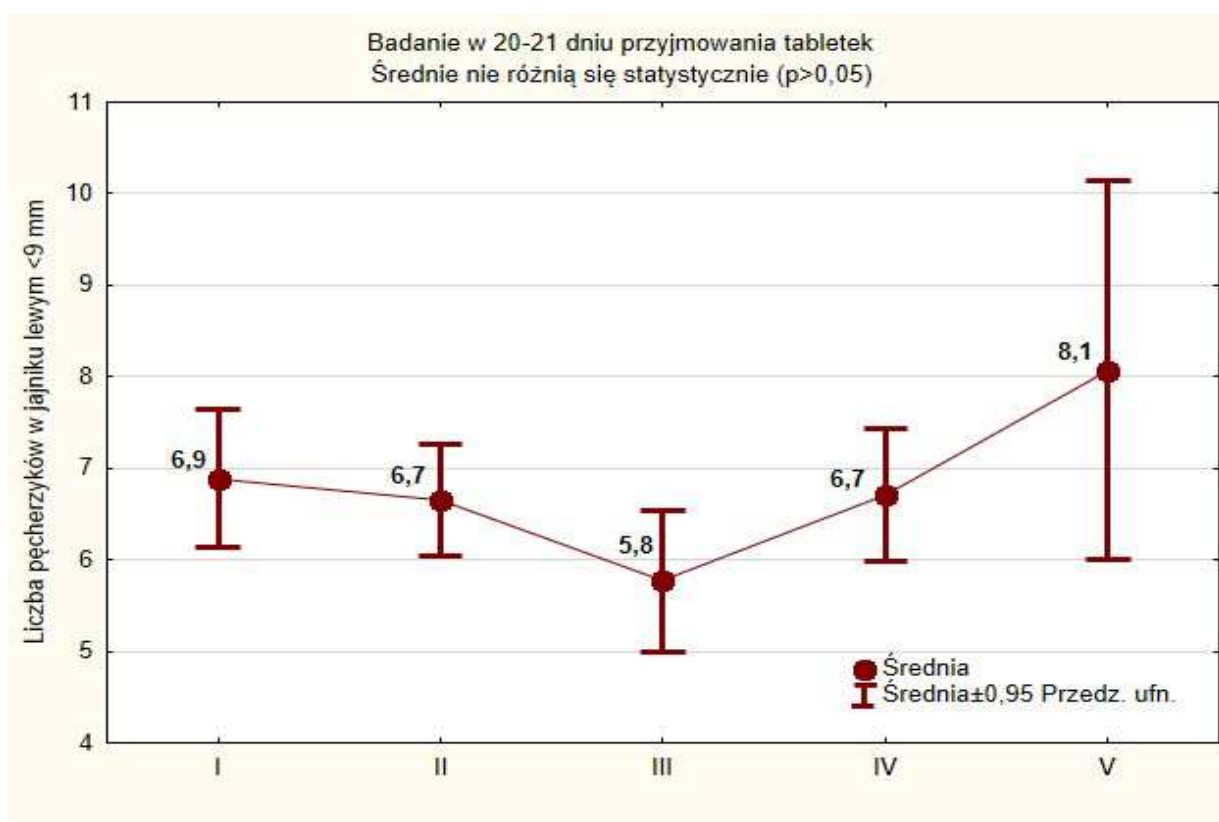


Ryc.20. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków ≤ 9 mm w jajniku lewym w 1-2.d.c.

W 20-21. d.c. największa liczba pęcherzyków ≤ 9 mm w jajniku prawym była w grupie V (7,9 pęch.). W grupie I liczba ta wyniosła 6,9 pęch., w II 5,9 pęch. w III 6,5 pęch. a w IV 6,3 pęch. (Ryc.21). W jajniku lewym w 20-21. d.c. największa liczba pęcherzyków ≤ 9 mm ponownie została zaobserwowana w grupie V (8,1 pęch.). W pozostałych grupach ich ilość była wyraźnie niższa (I – 6,9 pęch., II – 6,7 pęch., III – 5,8 pęch., IV – 6,7 pęch.), lecz również bez różnic statystycznie istotnych (Ryc.22).



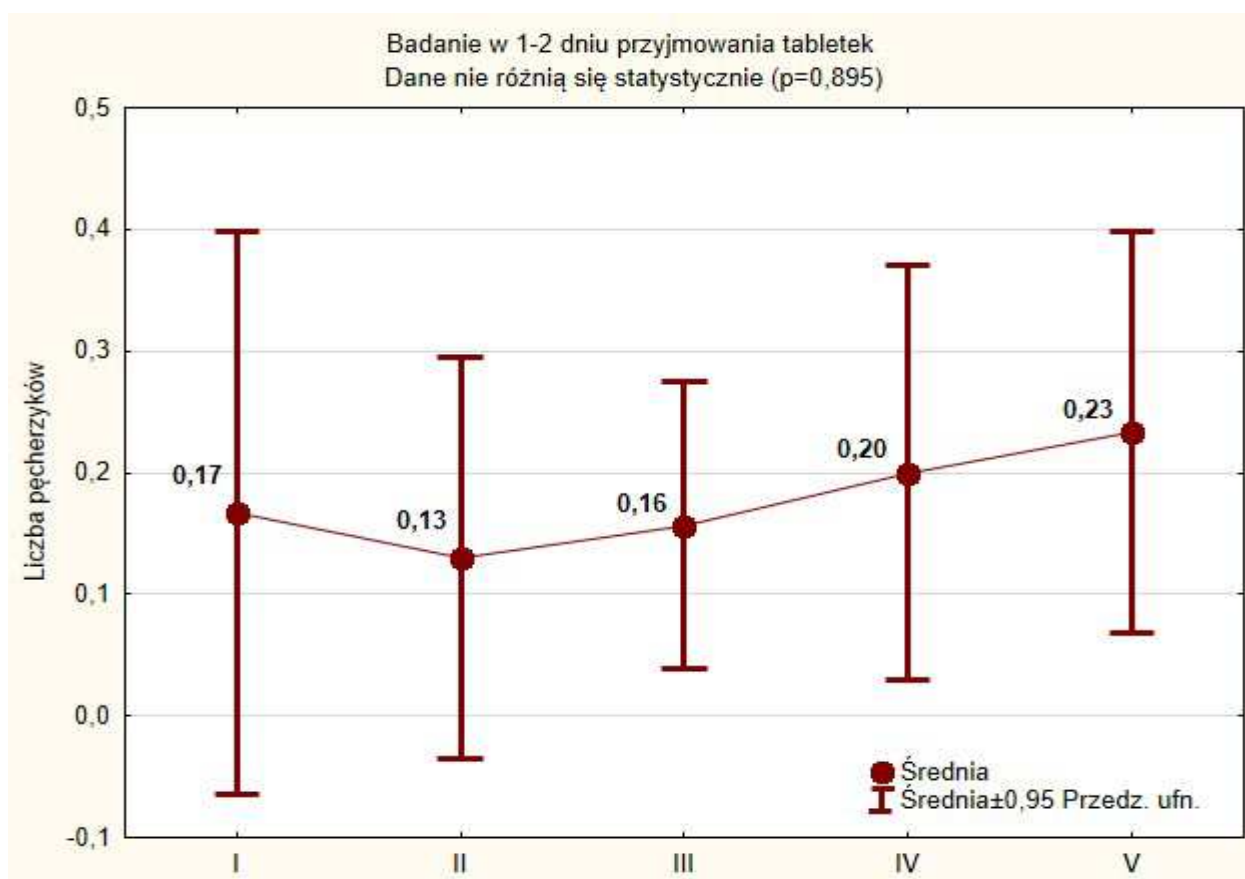
Ryc.21. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków ≤ 9 mm w jajniku prawym w 20-21.d.c.



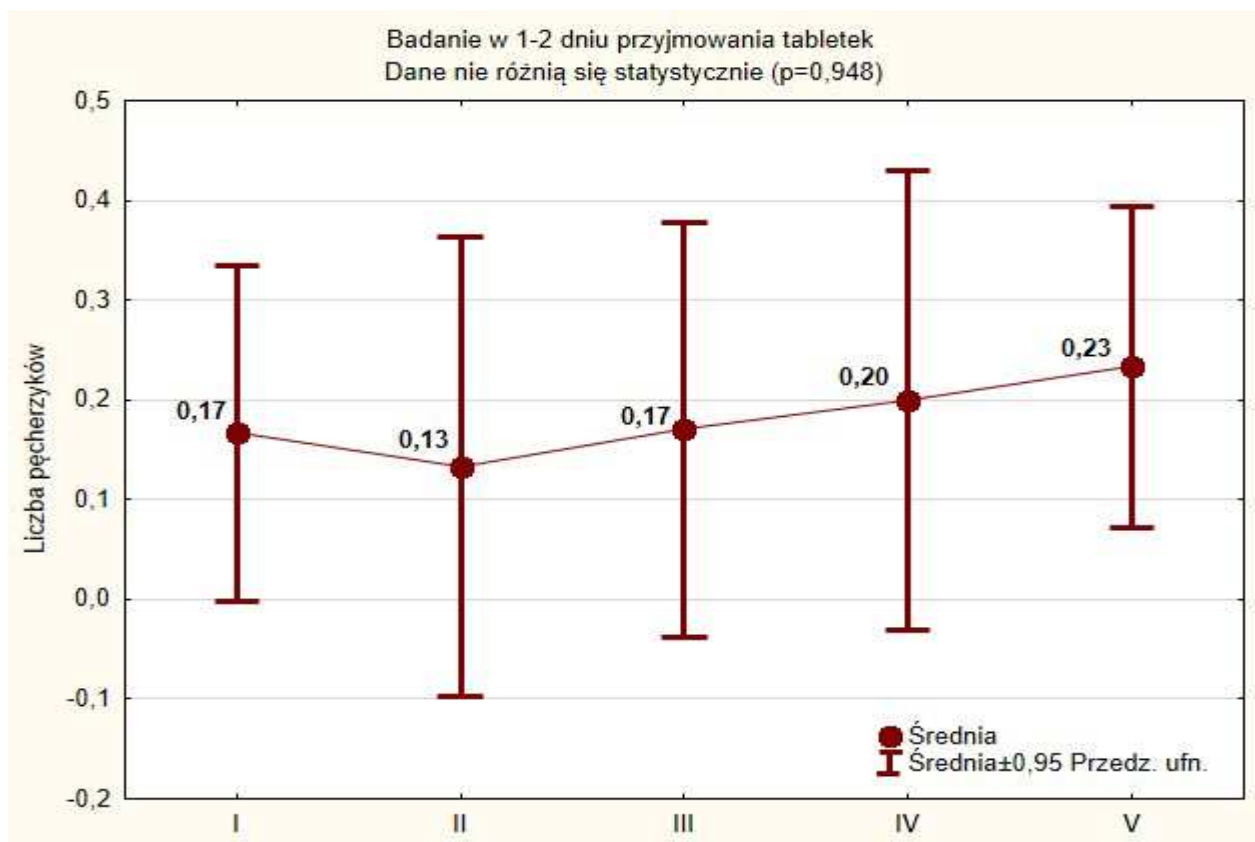
Ryc.22. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków ≤ 9 mm w jajniku lewym w 20-21.d.c.

4) Ocena wpływu DTA na średnią liczbę pęcherzyków powyżej 9 mm w jajnikach.

Średnia liczba pęcherzyków > 9 mm w jajniku prawym w 1-2. d.c. wyniosła w grupie I – 0,17 pęch., II – 0,13 pęch., III – 0,16 pęch., IV – 0,2 pęch i V – 0,23 pęch. (Ryc.23). Bardzo podobnie wyglądała ocena w tym samym dniu cyklu w lewym jajniku, odpowiednio grupie I – 0,17 pęch., II – 0,13 pęch., III – 0,17 pęch., IV – 0,2 pęch. i V – 0,23 pęch. (Ryc.24). W żadnej z analiz nie wykazano statystycznej istotności.

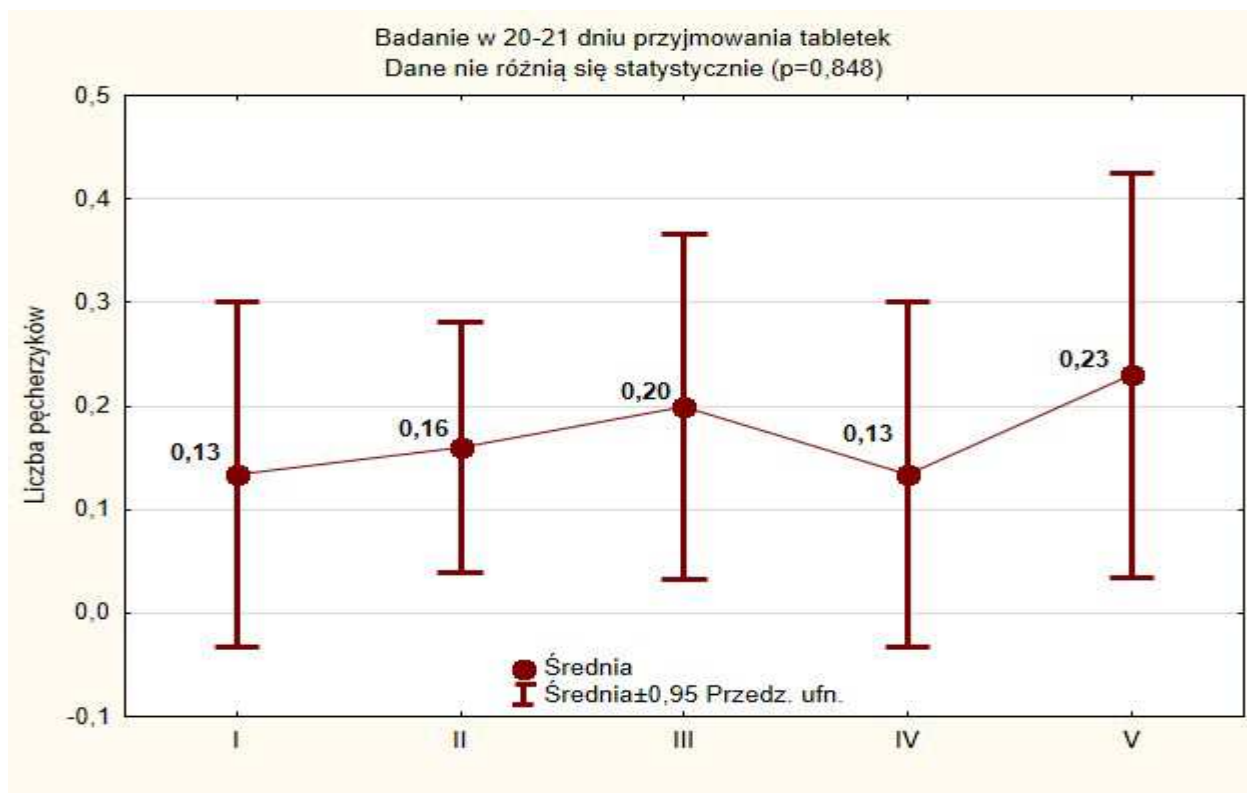


Ryc.23. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków >9 mm w jajniku prawym w 1-2.d.c.

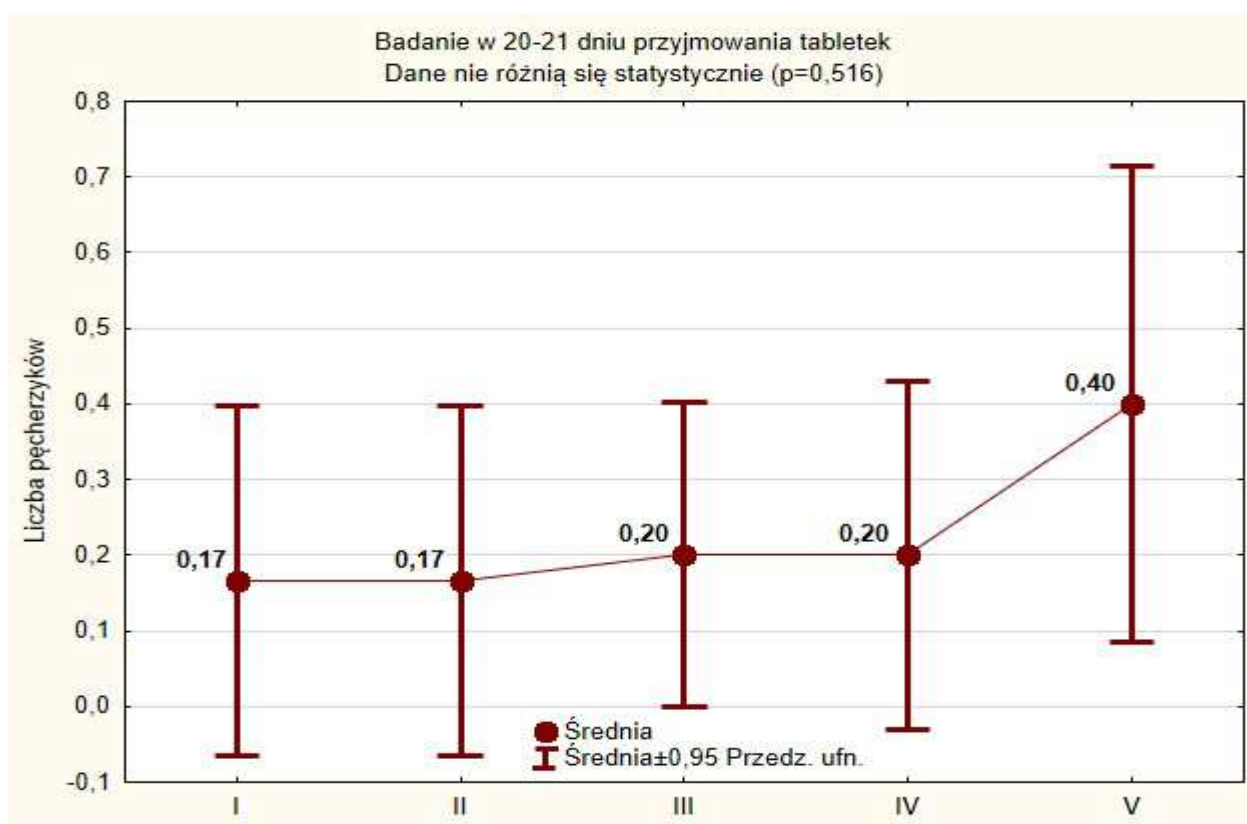


Ryc.24. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków >9 mm w jajniku lewym w 1-2.d.c.

W 20-21. d.c. średnia liczba pęcherzyków >9 mm w jajniku prawym wyniosła w grupie I – 0,13 pęch., II – 0,16 pęch., III – 0,2 pęch., IV – 0,13 pęch. i w V – 0,23 pęch. (Ryc 25). Natomiast w jajniku lewym w 20-21. d.c. największa ilość pęcherzyków >9 mm występowała ponownie w grupie V (0,4 pęch.) i była znacząco wyższa od średnich ilości pęcherzyków w pozostałych grupach: I– 0,17 pęch., II – 0,17 pęch., III – 0,2 pęch i IV – 0,2 pęch. (Ryc.26).



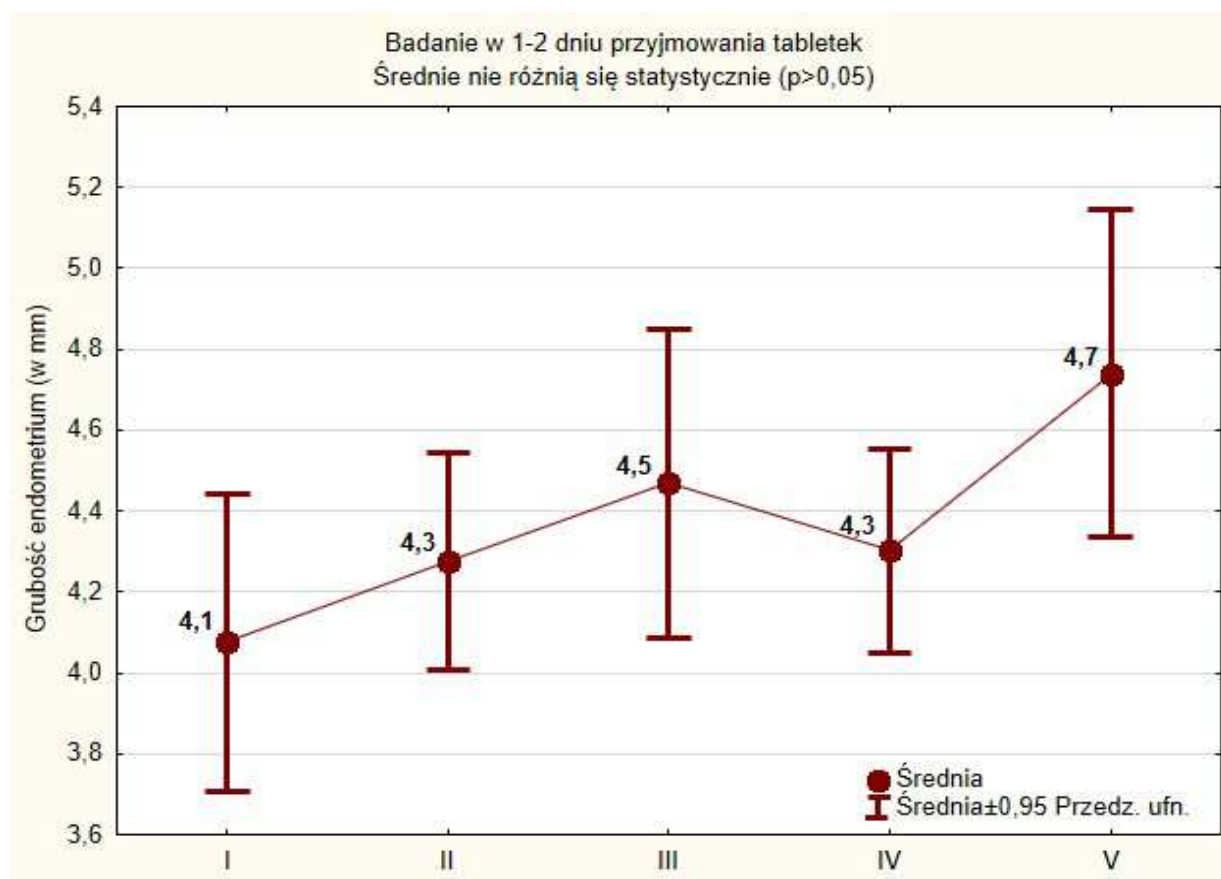
Ryc.25. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków >9 mm w jajniku prawym w 20-21.d.c.



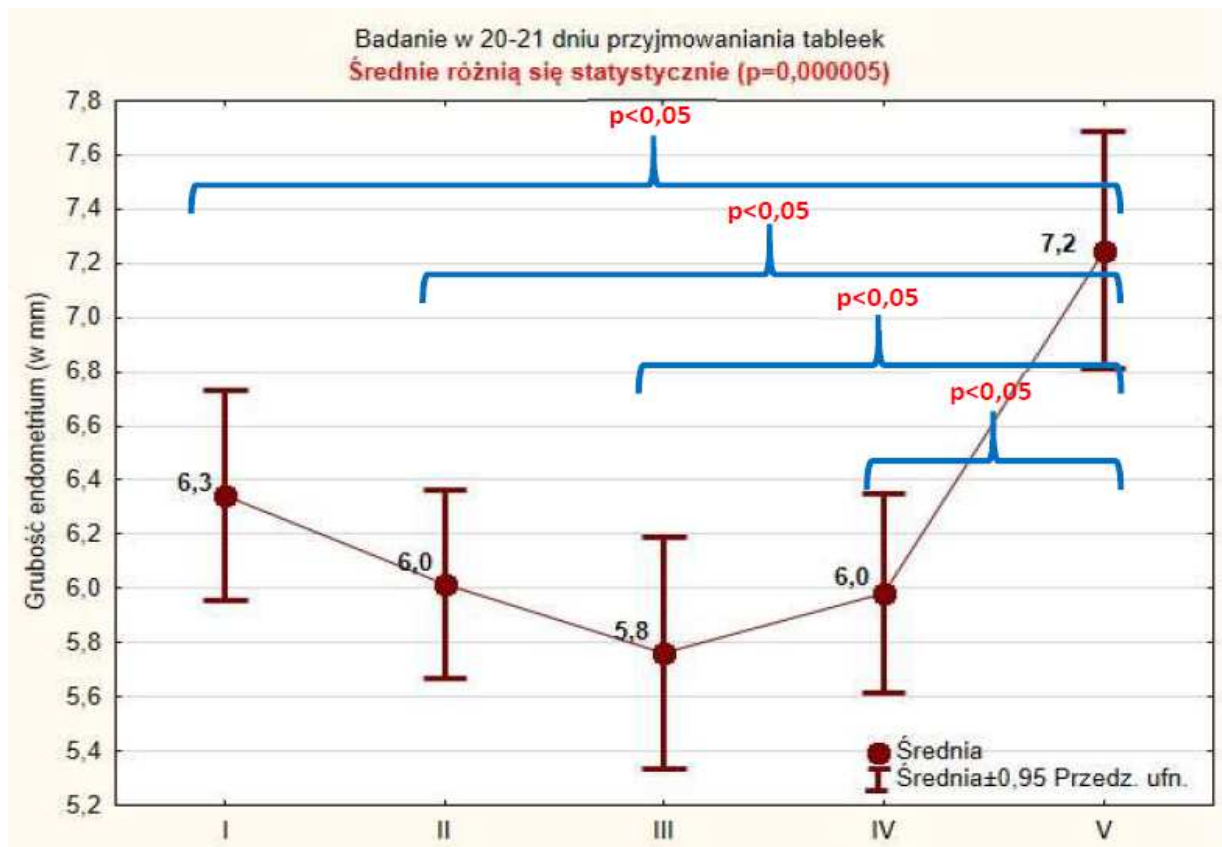
Ryc.26. Porównanie pomiędzy grupami średniej liczby pęcherzyków >9 mm w jajniku lewym w 20-21.d.c.

5) Ocena wpływu DTA na grubość endometrium.

Na koniec poddano analizie grubość endometrium w poszczególnych grupach. w 1-2. d.c. najwyższą wartość pomiaru stwierdzono w grupie V (4,7 mm), jednak różnica w stosunku do pozostałych grup nie była istotna (I – 4,1 mm, II – 4,3 mm, III – 4,5 mm, IV – 4,3 mm) (Ryc.27). Po 20-21 dniach przyjmowania tabletek grubość endometrium w grupie V (7,2 mm) była już statystycznie istotnie większa w porównaniu do wszystkich innych grup (I – 6,3 mm, II – 6,0 mm, III - 5,8 mm, IV – 6,0 mm) (Ryc.28).



Ryc.27. Porównanie pomiędzy grupami grubości endometrium w 1-2. d.c.



Ryc.28. Porównanie pomiędzy grupami grubości endometrium w 20-21. d.c.

U żadnej z pacjentek podczas badania nie zaobserwowano owulacji. Wszystkie rodzaje DTA były dobrze tolerowane. Nie stwierdzono żadnych poważnych działań ubocznych ani żadnych odchyłeń w ocenie klinicznej pacjentek. Żadna z pacjentek nie zrezygnowała z badania z powodu działań niepożądanych.

VII DYSKUSJA

Jedną z głównych cech charakteryzujących zdolności rozrodcze kobiety jest ich cykliczna aktywność będąca konsekwencją rozwoju pęcherzyka dominującego. W prawidłowych warunkach obserwuje się wzrost zazwyczaj jednego pęcherzyka dominującego odpowiedzialnego za produkcję estrogenów w fazie folikularnej cyklu. Po owulacji pęcherzyk dominujący przekształca się w ciało żółte (CL), które wydziela znaczne ilości progesteronu podczas fazy lutealnej.

Sama folikulogeneza czyli rozwój od pęcherzyka primordialnego do owulacyjnego jest długim, bo trwającym prawie rok, procesem. Jego pierwsza faza zwana przedantralną jest niezależna od gonadotropin, kontrolowaną przez lokalnie produkowane czynniki wzrostu działające w mechanizmie para- i autokrynnym, a charakteryzuje się wzrostem i różnicowaniem komórki jajowej. Faza druga (antralna), w której obserwujemy gwałtowny wzrost wielkości pęcherzyka (do ponad 20 mm), jest zależna zarówno od FSH i LH, jak i od lokalnych czynników wzrostu ⁶¹. Według klasycznego modelu Alaina Gougeona rozwój pęcherzyka jajnikowego podzielony jest na 8 klas. Faza przedantralna (klasa 1) składa się z 3 etapów: pęcherzyka primordialnego, pierwotnego oraz wtórnego i trwa około 290 dni lub 10 regularnych cykli miesięczkowych. Faza antralna jest zazwyczaj dzielona na 4 etapy: małe (klasa 2,3,4,5), średnie (klasa 6), duże (klasa 7) i przedowulacyjne pęcherzyki Graafa (klasa 8). Po wytworzeniu się jamki (klasa 3 ~0,4 mm) rozwój pęcherzyka przyspiesza i prowadzi do powstania 20 mm pęcherzyka przedowulacyjnego w ciągu około 60 dni lub 2 cykli miesięczkowych. Pęcherzyk dominujący zostaje wybrany z kohorty pęcherzyków klasy 5 na końcu fazy lutealnej lub na początku fazy folikularnej, a zatem na 15 do 20 dni przed jajeczkowaniem. Do atrezji zaś dochodzi od ukończenia fazy pęcherzyków wtórnych ze szczególnym nasileniem wśród pęcherzyków klasy 5,6 i 7 ⁶².

Proces folikulogenezy zaczyna się w korze jajnika od aktywacji pęcherzyka primordialnego, który wchodzi do puli pęcherzyków rosnących. Tempo aktywacji pęcherzyków primordialnych przebiega na względnie stałym poziomie w trakcie pierwszych trzech dekad życia, zaś szybkość atrezji pęcherzyków nierosnących w tym samym czasie ciągle przyspiesza, co wpływa nieco na spadek płodności już po 30 roku życia, a znacznie zmniejsza rezerwę jajnikową od 35 r.ż. ⁶³. Pęcherzyki primordialne nie mają niezależnego ukrwienia, więc ich dostęp do układu endokrynnego jest ograniczony, a kontrola ich aktywacji zachodzi dzięki parakrynnnej komunikacji pomiędzy oocytem, komórkami

ziarnistymi, przylegającymi do nich komórkami interstycjalnymi, a także sąsiednimi pęcherzykami. Komunikację te zapewniają różne czynniki wzrostu m.in. z rodziny transformującego czynnika wzrostu – β (TGF- β)⁶¹. Wykazano, że gonadotropiny przysadkowe nie są absolutnie konieczne do aktywacji pęcherzyków primordialnych, ponieważ zaobserwowano wzrost pęcherzyków do stadium pęcherzyków pierwotnych u zwierząt pozbawionych przysadki⁶⁴. Ekspresja receptorów FSH w komórkach ziarnistych zaczyna się na etapie pęcherzyka pierwotnego pod wpływem samego FSH, aktywiny, cyklicznego AMP oraz TGF⁶⁵. Choć aktywacja i rozwój pęcherzyków primordialnych jest gonadotropino-niezależna, FSH jest konieczne do przekształcenia się pęcherzyków pierwotnych w antralne⁶⁶.

Pojawienie się drugiej warstwy komórek ziarnistych zapoczątkowuje powstanie pęcherzyka wtórnego. Ten etap rozwoju dodatkowo łączy się z wykształceniem komórek tekalnych powstających z komórek podścieliska i rozmieszczonych dookoła błony podstawnej. Towarzyszy powstawanie wielu nowych drobnych naczyń krwionośnych, dzięki którym krew zaczyna opływać wokół pęcherzyka, dostarczając składników odżywczych i gonadotropin jednocześnie odbierając produkty wydzielania⁶⁷.

Następnie na jednym z biegunów oocytu pojawia się jamka wypełniona płynem pęcherzykowym, który jest surowiczym wysiękiem zawierającym związki wydzielone przez komórki ziarniste i oocyt⁶⁸. Po wykształceniu się jamki zasadnicza architektura pęcherzyka antralnego jest już ustalona i w odpowiedzi na czynniki stymulujące reaguje wzrostem i dalszym rozwojem. Wielkość pęcherzyków antralnych waha się od 0,4 do 25 mm i zależy zarówno od objętości płynu pęcherzykowego (0,02 – 7 ml) wypełniającego jamkę jak i również od proliferacji komórek ziarnistych i komórek tekalnych, których ilość zwiększa się stukrotnie⁶⁹.

Obserwuje się różnicowanie komórek tekalnych na otoczkę zewnętrzną zbudowaną z koncentrycznie ułożonych komórek mięśni gładkich oraz otoczkę wewnętrzną zbudowaną z dużych epitelioidalnych komórek interstycjalnych. Komórki tekalne otoczki wewnętrznej mają receptory dla LH oraz insuliny i w odpowiedzi na ich stymulację produkują duże ilości androgenów⁷⁰. Dochodzi również do różnicowania się komórek ziarnistych na trzy subpopulacje w zależności od umiejscowienia: błonowe, okołojamkowe i wzgórek jajonośnego. Wszystkie komórki ziarniste są wyposażone w receptory FSH, ale w zależności od podgrupy odpowiadają na stymulację FSH w sposób zróżnicowany ekspresją swoistych genów⁷¹.

Pęcherzyk dominujący jest wybierany spośród zrekrutowanej kohorty pęcherzyków klasy 5. Tempo mitozy komórek ziarnistych gwałtownie się wzrasta w całej kohorcie małych pęcherzyków antralnych w połowie fazy lutealnej, co może sugerować udział luteolizy na podziały mitotyczne komórek ziarnistych. O dokonaniu się selekcji, do której dochodzi raz podczas cyklu menstruacyjnego we wczesnej, ewentualnie środkowej części fazy folikularnej (6-9. d.c.), może świadczyć utrzymywanie się względnie intensywnej aktywności mitotycznej w jednym z pęcherzyków kohorty, podczas gdy proliferacja w pozostałych spowalnia. Zjawisko to obserwuje się po osiągnięciu przez pęcherzyk dominujący średnicy około 10 mm. W trakcie fazy folikularnej pęcherzyk dominujący szybko rośnie w przeciwieństwie do pozostałych pęcherzyków ze wzbudzonej kohorty ^{61,71,72}.

U podłoża selekcji leży prawdopodobnie wtórny wzrost FSH, który zaczyna się kilka dni przed spadkiem stężenia progesteronu na końcu fazy lutealnej. Stężenia FSH utrzymują się podwyższone przez pierwszy tydzień fazy folikularnej, co jest kluczowe dla prawidłowej selekcji pęcherzyka. Długość okresu podwyższonych powyżej krytycznego progu stężeń FSH determinuje ilość pęcherzyków dominujących. Gdy „okno” stężeń FSH powyżej progu jest krótkie, wyselekcjonowany zostaje tylko jeden pęcherzyk. Przeciwnie zaś, jeśli to „okno” zostaje przedłużone (np. podczas stymulacji jajczkowania do zapłodnienia pozaustrojowego), pozwala to na uzyskanie wielu pęcherzyków dominujących ⁷³. Przyczyną wzrostu poziomu FSH jest spadek syntezy estradiolu i inhibiny a przez ciało żółte ⁷⁴. w tym okresie obserwuje się również wzrost stężenia FSH w płynie pęcherzykowym dominującego pęcherzyka średnio z 1,3 mIU/ml (pęcherzyk klasy 5) do 3,2 mIU/ml (pęcherzyk klasy 8). W pozostałych niedominujących pęcherzykach poziom FSH pozostaje niski lub wręcz niewykrywalny ⁷⁰. Niejasnym pozostaje sposób w jaki jeden pęcherzyk z kohorty ma zdolność koncentrowania wysokich stężeń FSH w swoim mikrośrodowisku.

Od 5 - 8. d.c. rozpoczyna się aktywność enzymatyczna aromatazy w komórkach ziarnistych pęcherzyków większych niż 6-8 mm. Stymulowana przez LH produkcja androgenów w komórkach tekalnych dostarcza substratu do syntezy estradiolu w komórkach ziarnistych ⁷⁵. W pęcherzyku dominującym synteza 17 β -estradiolu znacznie przewyższa produkcję w pozostałych pęcherzykach kohorty, a jego płyn pęcherzykowy zawiera więcej estrogenów niż androgenów, podczas gdy w pęcherzykach atretycznych ten stosunek jest odwrotny ^{76,77}.

U ssaków 99,9% pęcherzyków ulega atrezji na drodze apoptozy zapoczątkowanej w oocycie i w komórkach ziarnistych. Los pęcherzyka zależy od kruchej równowagi pomiędzy czynnikami stymulującymi proliferację komórkową, wzrost oraz różnicowanie

pęcherzyków, a czynnikami proapoptycznymi promującymi śmierć komórkową. Jedne pęcherzyki primordialne zaczynają rosnąć podczas gdy inne są „uśpione” latami ⁷⁸. Obowiązkowa obecność i zasadnicza rola FSH w podtrzymaniu wzrostu pęcherzyka po uformowaniu się w nim jamki doprowadziło do powstania koncepcji, że FSH jest kluczowym czynnikiem przetrwania pęcherzyków antralnych. Nie wykazano bowiem, żeby jakikolwiek inny ligand posiadał tę wyjątkową aktywność ⁷⁹. Pierwotnym mechanizmem w jaki FSH kontroluje selekcję jest stymulacja zależnych od receptorów FSH ścieżek transdukcji sygnałów w komórkach ziarnistych. w efekcie FSH jest najważniejszym stymulatorem proliferacji komórek ziarnistych ⁸⁰.

Choć LH nie jest absolutnie konieczne do selekcji, jest jednak istotne w procesie formowania się pęcherzyka dominującego z powodu swojej zdolności do stymulowania syntezy substratu dla aromatazy czyli androstendionu. Działania FSH i LH wzajemnie się uzupełniają, nie tylko w zakresie produkcji estradiolu. Zdolność pęcherzyka przedowulacyjnego do odpowiedzi na stymulujący bodziec piku LH zależy od ekspresji receptorów LH na komórkach ziarnistych, a ta z kolei zależy od FSH. Zaobserwowano, że ekspresja tych receptorów jest hamowana aż do późnej fazy folikularnej. Są przekonujące dowody z badań na modelach zwierzęcych, że pochodzące z oocytu inhibitory nie pozwalają na wcześniejszą ekspresję receptorów LH indukowaną przez FSH. Wskazuje to na istotną rolę oocytu w blokowaniu ekspresji receptorów LH aż do początku ostatniego etapu przedowulacyjnego ^{70,81}.

W środowisku badaczy trwa wieloletnia debata co do schematu rekrutacji pęcherzyków, czyli pojawienia się grupy lub kohorty średniej wielkości (2 – 5 mm) pęcherzyków antralnych. Przeprowadzono wiele badań oceniających zmiany wielkości oraz liczby pęcherzyków podczas cyklu miesięczkowego. Według jednej teorii małe pęcherzyki antralne (<4-6 mm) są rekrutowane w sposób ciągły podczas całego życia reprodukcyjnego, niezależnie od gonadotropin ⁶⁹. Pęcherzyk przeznaczony do owulacji zostaje wyselekcjonowany przypadkowo z puli ciągle dostarczanych pęcherzyków antralnych zawdzięczając to prawdopodobnie właściwemu stopniu dojrzałości, by odpowiedzieć na wzrost poziomu FSH występujący po regresji ciała żółtego ⁸². Według innej teorii kohorta 2-5 mm pęcherzyków jest rekrutowana z ciągle zasilanej puli pęcherzyków antralnych tylko raz podczas cyklu miesięczkowego, tj. na końcu fazy lutealnej lub we wczesnej fazie folikularnej ⁸³. Uważa się, że zrekrutowane pęcherzyki są na podobnym choć nieidentycznym stopniu rozwoju i że opuściły pulę pęcherzyków primordialnych mniej więcej w podobnym czasie kilka miesięcy wcześniej ⁸⁴.

W przeciwieństwie do koncepcji jednej rekrutacji podczas cyklu miesięczkowego, zostało opisane zjawisko rekrutacji większej liczby kohort pęcherzyków antralnych określonych jako „fale” wzrostu pęcherzykowego⁷¹. Jako „falę” zdefiniowano jednoczesowe pojawienie się i następnie atrezię grupy pęcherzyków antralnych ≥ 5 mm (przy czym przynajmniej dwa pęcherzyki rosną ≥ 6 mm), które występuje w regularnych odstępach czasu podczas cyklu miesięczkowego. Pęcherzyki w każdej fali są podobnej, choć nie identycznej wielkości⁷¹. Pojawienie się kohorty od 4 – 14 pęcherzyków stwierdza się dwu lub trzykrotnie w okresie pomiędzy dwoma owulacjami (interowulatory interval-IOI). U większości kobiet (68%) występują dwie fale rekrutacji w jednym okresie IOI, podczas gdy u pozostałych (32%) są trzy fale. Kobiety charakteryzujące się trzema falami rekrutacji miały średnią długość IOI 29 dni, co istotnie różniło się od długości IOI 27 dni u kobiet z dwoma falami. W przypadku kobiet z dwoma falami, fala bezowulacyjna pojawiała się w okresie owulacji tj. we wczesnej fazie lutealnej, z następową falą owulacyjną we wczesnej fazie folikularnej. W przypadku modelu trójfalowego, pierwsza fala bezowulacyjna pojawia się w okresie okołowulacyjnym, następna również bezowulacyjna od połowy do późnej fazy lutealnej a trzecia (tym razem owulacyjna fala) między początkiem a połową fazy folikularnej⁷¹.

Każda z fal jest poprzedzona wzrostem krążącego FSH⁷¹. Inhibina B wydzielana przez komórki ziarniste zrekrutowanej kohorty hamuje wydzielanie FSH w środku fazy folikularnej. Drugi krótki wzrost inhibiny B obserwuje się również 2 dni po przedowulacyjnym pikie LH, co wskazuje na występowanie fali rekrutacji również w fazie lutealnej⁸⁵. Dodatkowym potwierdzeniem koncepcji występowania kilku fal pęcherzykowych są doniesienia o udanym pobraniu komórek jajowych podczas fazy lutealnej i następowym z dojrzwaniem tych oocytów *in vitro* w celu zachowania płodności w bardzo pilnych przypadkach⁸⁶. Zaobserwowano również, iż u niektórych kobiet selekcja nie dokonuje się raz podczas cyklu miesięczkowego, lecz kilka razy⁷¹. Fale, w których powstał pęcherzyk dominujący określono jako główne, a te w których nie zaobserwowano pęcherzyka dominującego jako mniejsze^{71,87}.

W większości sytuacji główna fala owulacyjna pojawia się w fazie folikularnej, podczas gdy jedna lub dwie mniejsze w fazie lutealnej. Natomiast u blisko $\frac{1}{4}$ kobiet jeden lub dwa pęcherzyki dominujące pojawiają się i ulegają regresji zanim dojdzie do selekcji pęcherzyka owulacyjnego⁷¹. Tempo wzrostu pęcherzyków wynosi około $1,42 \pm 0,05$ mm/dzień niezależnie od ilości fal pęcherzykowych. Zarówno dominujące jak i mniejsze pęcherzyki rosną i ulegają regresji w podobnym tempie. Jednak pęcherzyki owulacyjne z głównej fali rosną po selekcji pęcherzyka dominującego dwukrotnie szybciej niż

nieowulacyjne, ale nie wcześniej⁸⁸. Komórki ziarniste pęcherzyków nieowulacyjnych mają mniejszą ekspresję receptorów LH, co prowadzi do ich wolniejszego wzrostu. Prawdopodobnie większa ilość receptorów LH w pęcherzykach owulacyjnych wynika z większej ilości komórek ziarnistych we wczesnych stadiach antralnych, co zwiększa wrażliwość na FSH i większą produkcję estradiolu, który z kolei jest niezbędny do wytworzenia odpowiedniej ilości receptorów LH⁷².

Wydaje się, że obecność CL ma wpływ na selekcję u kobiet z trzema falami, bowiem nie dochodzi do niej jeśli druga z trzech fal pojawia się w środku fazy lutealnej (mniejsza fala bezowulacyjna). Natomiast gdy druga fala pojawia się na końcu fazy lutealnej lub początku fazy folikularnej, pęcherzyk dominujący zostaje wybrany⁷¹.

Na proces selekcji pęcherzyka ma również wpływ wiek kobiety. Rosnącemu wiekowi towarzyszy bowiem większa aktywność mitotyczna komórek ziarnistych w małych pęcherzykach antralnych⁸⁹, wcześniejsza selekcja pęcherzyka dominującego, krótsza faza folikularna, brak owulacji i większa częstość bliźniactwa dwuzygotycznego^{78,90,91,92}. Prawdopodobną przyczyną tych zmian jest szybsze tempo wzrostu pęcherzyka dominującego⁹³ lub wcześniejsze pojawienie się fali pęcherzykowej w fazie lutealnej cyklu poprzedzającego⁹⁴.

Estrogeny i gestageny w suprafizjologicznych stężeniach, poprzez ujemne sprzężenie zwrotne w osi podwzgórze – przysadka zmniejszają wydzielanie gonadoliberyny (GnRH), FSH i LH, co następnie hamuje wzrost pęcherzyków jajnikowych oraz owulację⁹⁵. Estrogeny zmniejszając sekrecję FSH hamują wzrost pęcherzyków przedantralnych i średniej wielkości antralnych, podczas gdy gestageny zapobiegając pikowi LH powstrzymują jajczkowanie^{96,97,98}. Dodatkowo estrogeny poprawiają komfort pacjentek zapobiegając nieregularnym krwawieniom z macicy. Wykazano jednak, że podczas antykoncepcji hormonalnej zostaje zachowana szczątkowa czynność jajników manifestująca się obecnością pęcherzyków^{60,99,100}, a poziomy endogenego estradiolu mogą osiągać nawet wartości przedowulacyjne^{101,102,103,104}. Średnie tempo wzrostu pęcherzyków rozwijających się podczas DTA wynosi $1,36 \pm 0,08$ mm, co nie odbiegało znacznie od tempa w naturalnym cyklu ($1,42 \pm 0,05$ mm). Pęcherzyki owulacyjne rosną nieco szybciej ($1,53 \pm 0,13$ mm) niż nieowulacyjne ($1,28 \pm 0,09$ mm)⁸⁸.

W ocenie wielu autorów stopień hamowania aktywności pęcherzykowej zależy głównie od dawki estrogenów, a nie od typu czy dawki gestagenu^{84,102,105}. Redukcja dawki estrogenów zmniejsza supresję przysadki i obserwuje się wzrost aktywności pęcherzyków, zwłaszcza podczas HFI jak również przy pominięciu dawki¹⁰⁶. Prawdopodobnie klirens

antykonceptyjnych hormonów sterydowych podczas HFI jest odpowiedzialny za częściowe utrzymanie aktywności pęcherzykowej jajników. W naturalnym cyklu miesięczkowym selekcja pęcherzyka dominującego dokonuje się w pierwszych 7 dniach cyklu¹⁰⁷. Pęcherzyki ≥ 10 mm były wykrywane podczas HFI u 86% pacjentek, a poziomy estradiolu i FSH pod koniec HFI były porównywalne do tych we wczesnej fazie folikularnej⁶⁰. Dodatkowo w trakcie HFI gwałtownie rosną stężenia inhibiny B, co jest bardzo czułym wskaźnikiem endogennej aktywności hormonalnej pęcherzyków¹⁰⁸. Jeśli w trakcie HFI nie rozwinął się pęcherzyk dominujący, supresja pęcherzykowa zostaje podtrzymana. Kiedy jednak dojdzie do wykształcenia się pęcherzyka dominującego, jego wzrost zostaje utrzymany pomimo spadających poziomów FSH^{109,110}. Porównano trzy grupy pacjentek przyjmujących 20 μg EE + 75 μg GES, 20 μg EE + 150 μg DSG oraz 30 μg EE + 150 μg DSG i wielkość pęcherzyków na początku i końcu HFI była istotnie większa w obu grupach 20 μg EE niż w grupie 30 μg EE. Pęcherzyki dominujące (≥ 10 mm) na końcu HFI uzyskano tylko u kobiet przyjmujących 20 μg EE (odpowiednio u 27% w grupie z GES i u 18% w grupie z DSG). Co więcej, pole pod krzywą dla estradiolu było statystycznie istotnie mniejsze dla dawki 30 μg niż w obu grupach z 20 μg ¹⁰⁹. Wykazano również, iż skrócenie HFI (np. w protokołach DTA 24 + 4) charakteryzuje się silniejszym działaniem supresyjnym na jajniki oraz na grubość endometrium^{40,111,112}. Przeciwnie ryzyko niepowodzenia antykoncepcji rośnie w przypadku pominięcia pierwszej lub ostatniej tabletki, co prowadzi do wydłużenia HFI^{60,113}. Wydłużając natomiast HFI do 9-10 dni stwierdzono, że większa aktywność pęcherzykowa i wyższe stężenia estradiolu występowały u pacjentek przyjmujących DTA z niższą dawką EE (20 μg vs 30-40 μg)^{114,115}.

Ryzyko jajczkowania w przypadku pominięcia tabletki jest także większe u kobiet przyjmujących DTA z 20 μg EE niż z wyższymi dawkami¹¹⁶. Chociaż czas półtrwania EE jest stały niezależnie od dawki, to już maksymalne stężenie EE jest skorelowane z dawką. EE zostaje usunięty z organizmu po 2-3 dniach od ostatniej aktywnej tabletki, więc progowy poziom, poniżej którego zostaje przywrócona aktywność osi przysadka–jajnik, może zostać osiągnięty wcześniej w przypadku niskodawkowej DTA^{109,117}. Przeprowadzono również badanie, w którym w ostatnich 5 dniach 7-dniowej HFI dodano 10 μg EE. Zaobserwowano istotne zahamowanie aktywności pęcherzykowej w stosunku do grupy z placebo¹¹⁸. Analogiczny efekt do skrócenia HFI wywołuje również całkowite jej wyeliminowanie. W dwóch randomizowanych badaniach porównano klasyczny schemat dawkowania 21 + 7 dni z terapią ciągłą wykazując znacząco niższe stężenia estradiolu oraz mniejszą wielkość pęcherzyków w schemacie bez przerw^{119,120}. Rozwojowi pęcherzyków często towarzyszą

charakterystyczne dla estrogenów objawy, które kobiety odczuwają podczas i po HFI takie jak: mdłości, obrzęki, tkliwość piersi, bóle głowy i podbrzusza. Objawy te występują częściej w przypadku niskodawkowych preparatów, co prawdopodobnie wiąże się mniejszą supresją steroidogenezy jajnikowej¹⁰⁸.

W prospektywnym badaniu Deb i wsp. analizowali sonograficzne i endokryne markery u 34 kobiet przyjmujących DTA (30 µg EE i 150 µg LNG) przez okres ponad roku porównując je do markerów 36 kobiet z grupy kontrolnej. Grupa z DTA charakteryzowała się istotnie niższą liczbą pęcherzyków antralnych ≥ 6 mm oraz objętością pęcherzyków. Jednak liczba małych pęcherzyków antralnych 2 – 6 mm była porównywalna pomiędzy grupami. Poziomy FSH, LH i estradiolu były znacząco niższe w grupie DTA, lecz nie stwierdzono różnic w stężeniach AMH pomiędzy grupami¹²¹. W innym badaniu podczas stosowania DTA przez okres 3 miesięcy dominujący pęcherzyk rozwinął się u 47% pacjentek ulegając atrezji przed osiągnięciem 14 mm. Zaś u 53% pacjentek pęcherzyki dominujące rosły do 14 mm lub więcej i również ulegają atrezji lub przekształcają się w ciało krwotoczne bez jajczkowania¹²². W pracy poglądowej, która analizowała 29 badań, w 10 z nich potwierdzono hormonalnie owulację z lub bez potwierdzenia ultrasonograficznego. Odsetek ciąży był niski (indeks Pearla $< 1,0$). W 17 z tych 29 badań owulacji nie stwierdzono, a w pozostałych dwóch doniesiono o 2 ciążach pomimo nie wykrycia jajczkowania⁶⁰. Uważa się, że zahamowanie piku LH powstrzymuje owulację. Nie wiadomo jednak, dlaczego niektóre pęcherzyki jajczkują w trakcie DTA, podczas gdy inne nie⁶⁰.

Porównywano również efekt włączenia DTA na różnych etapach rozwoju pęcherzyków. Jeśli leczenie rozpoczęto w przypadku pęcherzyków < 10 mm uzyskano zahamowanie ich dalszego wzrostu. Jeśli natomiast włączono je przy wielkości ≥ 10 mm, pęcherzyki rosły do wielkości przedowulacyjnych, choć do jajczkowania nie dochodziło. Selekcja pęcherzyka dominującego w naturalnym cyklu dokonuje się przy średniej wielkości pęcherzyka około 10 mm, więc włączenie DTA w obecności większych pęcherzyków nie hamuje całkowicie ich wzrostu, ponieważ selekcja już się dokonała⁷¹. Do jajczkowania dochodzi jednak u 1/3 pacjentek, jeśli DTA została wdrożona przy pęcherzykach przekraczających 14 mm i aż w 93% jeśli pęcherzyki miały co najmniej 18 mm. Stwierdzono, że stężenia estradiolu i LH były większe u pacjentek z pęcherzykami powyżej 14 mm¹²³, co potwierdza wcześniejsze obserwacje, że synteza estradiolu i wrażliwość komórek ziarnistych na LH zwiększają się ze wzrostem pęcherzyka dominującego po selekcji¹²⁴. Co ciekawe, w cytowanym badaniu średnie stężenia piku LH we wszystkich grupach były niższe niż w grupie referencyjnej. Mimo to do owulacji doszło u 29% kobiet u których DTA rozpoczęto

przy pęcherzykach 14 mm i u 93% kobiet u których DTA rozpoczęto przy pęcherzykach 18 mm¹²⁴. Dominujące pęcherzyki podczas DTA są bardziej wrażliwe na LH po selekcji, co pozwala im rosnąć i wielu przypadkach jajczkować pomimo wytłumionych stężeń LH, co zresztą było wcześniej sygnalizowane¹²⁵. Jeśli jednak duże dominujące pęcherzyki nie jajczkują, często mogą ulec przekształceniu w złuteinizowane niepęknięte pęcherzyki lub torbiele czynnościowe^{116,126,127}.

Zaobserwowano ponadto, że stopień wzrostu pęcherzyków podczas leczenia DTA zależy również od długości naturalnych cykli, a zwłaszcza od długości fazy folikularnej. U pacjentek, u których pęcherzyki dojrzewają szybciej i owulacja występuje wcześniej, osiągają one również większe rozmiary podczas DTA niż u kobiet z późniejszą owulacją. Zjawisko to wynika prawdopodobnie z szybszej selekcji pęcherzyka dominującego podczas HFI¹²⁸. Wpływ dawki estrogenów został również wykazany w badaniach porównawczych. Maksymalny rozmiar i liczba pęcherzyków podczas stosowania DTA były większe u kobiet przyjmujących 20 µg EE niż u przyjmujących 30-35 µg EE¹⁰². Dodatkowo dawka 20 µg EE wiązała się z wyższymi stężeniami FSH i LH¹⁰⁵. Również ryzyko wzrostu pęcherzyków i owulacji po niezamierzonym pominięciu tabletki rośnie w przypadku DTA z 20 µg EE niż w przypadku preparatów z wyższą dawką EE¹¹⁶. W innym prospektywnym badaniu oceniającym aktywność jajników podczas stosowania 30 µg EE i 75 µg GES wykazano, że w przypadku braku pęcherzyków ≥ 10 mm, poziomy osoczowego estradiolu wynosiły $\leq 0,1$ nmol/l. Według badaczy USG dostarcza wiarygodnej oceny szczątkowej aktywności jajników i jej stopień może być parametrem skuteczności DTA¹²⁹. Kolejnym aspektem skuteczności DTA była analiza jej wpływu na powstawanie torbieli funkcjonalnych w jajnikach. Wykazano, że wszystkie złożone preparaty hormonalne zapobiegają rozwojowi zmian czynnościowych, przy czym tabletki z mniejszą dawką charakteryzują się słabszym stopniem działania supresyjnego^{130,131}.

Oceniano również wpływ antykoncepcji hormonalnej na ultrasonograficzne i endokrynologiczne markery rezerwy jajnikowej. Porównując grupę 228 kobiet stosujących antykoncepcję hormonalną do grupy kontrolnej (504 kobiety) zaobserwowano znacząco niższe parametry rezerwy jajnikowej, w szczególności AMH o 29,8%, AFC o 30,4% i objętość jajników o 42,2%. Liczba pęcherzyków antralnych (AFC) mierzonych w 2-3. d.c. była niższa w każdej z kategorii wielkości pęcherzyków (małych 2-4 mm, średnich 5-7 mm i dużych 8-10 mm). Wykazano również istnienie liniowej zależności ujemnej pomiędzy długością stosowanej antykoncepcji a ocenianymi markerami. Co więcej nie było zależności pomiędzy dawką EE a AMH i AFC¹³². Jednak w odniesieniu do ewentualnego wpływu

antykoncepcji hormonalnej na poziom AMH jest ciągle dużo kontrowersji. Choć w wielu pracach wykazano spadek AMH podczas takiej terapii¹³³⁻¹³⁶ wielu autorów nie potwierdziło tej obserwacji, zarówno w grupie kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS) jak i zdrowych^{121,137-141}.

W prezentowanym badaniu nie do końca udało się wykazać proponowaną przez Fausera i Van Heusdena tezę, że za efekt hamujący aktywność pęcherzykową jajników odpowiada przede wszystkim dawka estrogenów. Najwyższe stężenia estradiolu zarówno w 1-2. d.c. jak i 20-21. d.c. zaobserwowano w grupach z największą dawką EE (IV i V grupie), choć różnice te nie osiągnęły istotności statystycznej. Kolejnym parametrem odwzorowującym stopień supresji przysadki przez DTA jest stężenie FSH. Interesującą obserwacją jest fakt, że najwyższe stężenia wykazano w grupie IV o wysokiej dawce EE (35 µg). Po 20 dniach przyjmowania DTA, największą ilość pęcherzyków stwierdzono w grupie V (30-40 µg EE) zaś najmniejszą w grupie III (20 µg EE), choć i w tym przypadku różnice nie były istotne. Natomiast średnia wielkość pęcherzyków w V grupie w 1-2. d.c. była już istotnie większa od pozostałych grup. Również w 20-21. d.c. średnica pęcherzyków w V grupie była najwyższa, tym razem bez istotności statystycznej. Należy również zwrócić uwagę na stosunkowo dużą średnicę pęcherzyków (z dużym odchyleniem standardowym) w grupie I z GES w porównaniu do innych gestagenów trzeciej generacji (DSG i NGS). Wystąpienie tego zjawiska można spróbować wytłumaczyć analizą rozkładu różnych wielkości pęcherzyków dla każdego z leków (Ryc.18). Okazuje się bowiem, że w 20-21 d.c. aż 25% kobiet przyjmujących preparat z GES miało pęcherzyki średnicy powyżej 20 mm, czyli wielkości przedowulacyjnej. Ponieważ pęcherzyki >9 mm na końcu HFI lub na początku przyjmowania DTA mogą już być po selekcji, wyjaśniałoby to ich dalszy wzrost w trakcie terapii. Co ciekawe, w 1-2. d.c. w grupie I nie zaobserwowano większej liczby pęcherzyków >9 mm niż w pozostałych grupach (Ryc.23 i Ryc.24). Również liczba pęcherzyków mniejszych niż 9 mm w I grupie nie odbiegała istotnie od średnich w pozostałych grupach (Ryc.19 i Ryc.20). Paradoksalnie była nawet najniższa spośród wszystkich badanych grup. Można by podejrzewać, że hamowanie wzrostu pęcherzyków, które już przeszły proces selekcji, w grupie I było najsłabsze, jednak zbyt mała liczebność podgrup oraz brak statystycznie istotnych różnic nie pozwala na wyciągnięcie takiego wniosku.

W badaniu wykonano również pomiary liczby i średnicy pęcherzyków dla każdego z jajników z osobna. Nie wpłynęło to jednak ogólnie na wcześniejsze wyniki. Nie zaobserwowano bowiem większej aktywności żadnego z jajników. Tam gdzie różnice były

statystycznie istotne (średnia średnica pęcherzyków w 1-2. d.c.) istotność ta dotyczyła każdego z jajników i odwrotnie jeśli różnice były nieistotne, również nie stwierdzono rozbieżności pomiędzy jajnikami. Wyniki dotychczasowych badań nad różną aktywnością pęcherzyków jajnikowych (prawy jajnik vs lewy jajnik) są rozbieżne. Są prace dokumentujące częstsze występowanie owulacji z prawego jajnika ¹⁴² jak i doniesienia nie potwierdzające tej obserwacji ^{71,143}. W badaniach gdzie oceny liczby pęcherzyków antralnych dokonywano przy użyciu USG trójwymiarowego zaobserwowano, że jajnik prawy miał większą objętość, wyższe indeksy przepływów i zawierał więcej pęcherzyków antralnych niż lewy ^{144,145}. Możliwą przyczyną różnic pomiędzy prawym a lewym jajnikiem może być różne unaczynienie, spływ żylny z prawego jajnika odbywa się bowiem do żyły głównej dolnej podczas gdy z lewego do żyły nerkowej. Przeprowadzono również wiele badań nad wpływem obecności CL na selekcję pęcherzyka dominującego. W siedmiu na osiem przypadków stwierdzono rozwój pęcherzyka dominującego w jajniku przeciwnym do tego w którym jest CL ⁷⁶. Pęcherzyk dominujący rozwijający się przeciwstronnie do uprzedniej owulacji ma wyższy stosunek estradiolu do androstendionu niż pęcherzyk dominujący rosnący ipsilateralnie ¹⁴⁶. Co ciekawe odsetek ciąż w naturalnych cyklach był wyższy jeśli owulacja miała miejsce w jajniku bez CL z poprzedniego cyklu ¹⁴⁶. Oceny jajczkowania prowadzone jednak w późniejszych badaniach zdają się potwierdzać pogląd, że selekcja i owulacja dokonują się losowo pomiędzy prawymi a lewymi jajnikami ⁷⁸. Badacze interpretują te obserwacje jako efekt działania jajników w sposób typowy dla pojedynczego organu, gdzie fale pęcherzykowe są regulowane raczej przez ogólnosystemowe niż lokalne mechanizmy, co zostało zresztą wcześniej wykazane na modelach zwierzęcych ¹⁴⁷.

Opublikowano kilka prac porównujących aktywność pęcherzykową podczas stosowania różnego typu preparatów ^{104,109}. Jokoubkiene i wsp. ocenili liczbę pęcherzyków u 110 kobiet przyjmujących preparaty ze starszym typem gestagenu (LNG lub noretisteron - NET) oraz u 100 kobiet przyjmujących nowsze gestageny (DSG, GES, NGS, DRSP). Dawka EE wynosiła 20 µg lub 30-35 µg. Nie stwierdzono znaczących różnic w ilości pęcherzyków >10 mm pomiędzy badanymi preparatami. Porównywano również preparaty o tej samej dawce EE (20 µg), a różniące się gestagenem tj. DSG i GES, nie obserwując istotnych różnic zarówno w szczątkowej aktywności jajników jak i parametrach hormonalnych ¹⁴⁸. W innym badaniu porównano stopień hamowania aktywności jajników przy zastosowaniu 20 µg EE + 500 µg NET lub 20 µg EE + 150 µg DSG. Mimo że wykładniki ultrasonograficzne i hormonalne wskazywały na większą supresję jajników w grupie z DSG różnice nie były statystycznie istotne ¹⁴⁹. Wyniki prezentowanego badania sugerowałyby, że rodzaj

zastosowanego progestagenu może mieć jednak wpływ na rozwój pęcherzyków i aktywność hormonalną jajników. Podobne wątpliwości zaobserwowano już w innym badaniu porównującym czynność jajników podczas stosowania DTA z 20 µg EE i 1 mg octanu noretindronu (NETA) w schemacie z 7-dniową HFI lub 4-dniową HFI ¹⁰⁸. W tym randomizowanym badaniu oceniającym 41 zdrowych kobiet nie zaobserwowano istotnych różnic w stopniu hamowania aktywności pęcherzykowej pomiędzy porównywanymi schematami ¹⁰⁸. Było to sprzeczne z wcześniejszymi obserwacjami z podobnie zaprojektowanych badań, gdzie stosowano inne gestageny ^{150,151}. NETA ma krótszy czas pół trwania (7-8h) w porównaniu do GES i DRSP (odpowiednio 12 i 30h), co może mieć wpływ na brak ciągłego hamowania jajników podczas 4-dniowej HFI przy stosowaniu NETA ^{16,152}. W przeciwieństwie do innych gestagenów, NETA posiada unikalną właściwość ulegania częściowej konwersji do EE podczas metabolizmu, zwiększając o 2-10 µg pulę krążącego EE ^{152,153}.

Syntetyczne gestageny różnią się między sobą znacząco. Wiążą się bowiem nie tylko z receptorem progesteronowym, ale również z innymi receptorami steroidowymi, takimi jak androgenowym, glikokortykoidowym, mineralkortykoidowym oraz estrogenowym. Różnice w działaniu pomiędzy gestagenami (np. nasilenie bądź zmniejszenie trądziku lub zatrzymanie wody w organizmie) wynikają z różnego stopnia powinowactwa do konkretnych receptorów. Okazuje się jednak, że stopień powinowactwa do receptora nie zawsze *in vivo* koreluje ze stopniem nasilenia efektu estrogennego lub androgennego. Podczas badania estrogennego działania gestagenów wykazano, że masa macicy u pozbawionych jajników szczurów znacząco wzrosła w grupie stosującej LNG w porównaniu do grupy stosującej pochodną 19-norprogesteronu Nesterone® ¹⁵⁴. Tymczasem żaden z tych gestagenów nie wiąże się z receptorem estrogenowym. Levonorgestrel był pierwszym z badanych progestagenów. Później w celu minimalizacji efektu androgennego wprowadzono gestoden, dezogestrel i norgestimiat ¹⁵⁵. Zaobserwowane w przedstawianej pracy różnice pomiędzy stosowanymi preparatami mogą wynikać z kilku powodów, w tym właściwości farmakokinetycznych. Gestageny trzeciej generacji (GES, DSG, NGS) charakteryzują się wyższym stopniem powinowactwa do receptora progesteronowego ^{22,156}. Minimalna dawka hamująca owulację to 40 µg GES i 50 µg LNG ⁵². Dodatkowo sytuację komplikuje różny stopień powinowactwa gestagenów do SHBG, co moduluje ich czas półtrwania. GES jest związany z SHBG w 75%, podczas gdy LNG w 47%. Efektem tego może być niższy klirens metaboliczny i wyższe osoczowe stężenia GES, co zwiększa hamowanie przysadki i w połączeniu z dłuższym czasem półtrwania poprawia skuteczność antykoncepcyjną np. w przypadku pominięcia

dawki ¹⁵⁷. Wykazano większą supresję wydzielania FSH u pacjentek stosujących GES niż LNG ¹⁵⁸, co również zaobserwowano w prezentowanej pracy (w 20-21. d.c.).

Innym ważnym czynnikiem decydującym o właściwościach farmakokinetycznych progestagenów jest biodostępność, która determinuje ich absorpcję z przewodu pokarmowego. Progestagenami charakteryzującymi się najwyższą biodostępnością doustną jest GES i DSG ^{159,160}.

Wiele progestagenów stosowanych zarówno w antykoncepcji jak i hormonalnej terapii zastępczej jest pochodnymi testosteronu i ich główne działania uboczne wiążą się z ich właściwościami androgennymi lub glikokortykoidowymi. Poprawa profilu hormonalnego progestagenów polegała między innymi na zmniejszeniu ich androgenności. Jednak tym sposobem progestageny trzeciej generacji utraciły część swojej zdolności do przeciwstawiania się efektowi EE zawartemu w DTA ²⁰. Nieco więcej światła na to, jak progestageny modulują działanie estrogenów rzucają badania nad powikłaniami związanymi z terapią hormonalną. Ryzyko VTE obserwowane zwłaszcza podczas pierwszego roku zażywania DTA wzbudzało wiele kontrowersji, ponieważ niektóre prace donosiły o zwiększonym ryzyku VTE u kobiet stosujących DTA z progestagenami trzeciej generacji ¹⁶¹. Chociaż to głównie dawka estrogenów zawartych w DTA wiąże się z ryzykiem VTE, to stopień estrogenizacji i ryzyko wystąpienia epizodu zakrzepowego zależy również od właściwości androgennych i antyestrogennych progestagenu. Odland i współpracownicy ocenili stężenie globuliny wiążącej hormony płciowe (SHBG) jako wskaźnika estrogenizacji i zastępczego markera ryzyka wystąpienia VTE ¹⁶². SHBG jest bardzo czułe na estrogeny i charakteryzuje się wysokim wzrostem stężenia zależnym od dawki przyjmowanego doustnie samego EE ¹⁶³. W przypadku DTA wzrost SHBG jest zróżnicowany w zależności od antyestrogennych właściwości zastosowanego progestagenu. Wykazano związek pomiędzy donoszonym w różnych pracach ryzykiem VTE a średnim wzrostem poziomów SHBG, identyfikowanym przez autorów jako miara całkowitej estrogenności. Monofazowe DTA zawierające LNG (+ 30 µg EE) miały 50% wzrost SHBG podczas gdy tabletki z DSG i GES (+ 30 µg EE) charakteryzowały się 200-300% wzrostem SHBG. Trójfazowe preparaty zawierające LNG, GES lub DSG powodowały wzrost stężeń SHBG odpowiednio o 100%, 150% i 200%. Octan cyproteronu z jeszcze wyższym poziomem ryzyka VTE miał 300-400% wzrost poziomu SHBG ¹⁶². Podobne obserwacje przyniosły badania nad minimalnym skutecznym antykoncepcyjnie stężeniem LNG. Jako androgenny progestagen hamuje syntezę SHBG w monoterapii, lecz zmniejsza również stopień wzrostu poziomu SHBG indukowanego przez EE ¹⁶⁴.

W prezentowanym badaniu wykazano również istotne różnice w działaniu badanych preparatów na błonę śluzową macicy. DTA wywierają na endometrium przede wszystkim efekt progestagenny. Gestageny zmniejszają stymulujący efekt estrogenów na endometrium hamując ekspresję receptorów estrogenowych²¹. W pierwszych cyklach stosowania indukują różnicowanie wydzielnicze ze współistniejącymi cechami proliferacyjnymi i sekrecyjnymi, a dopiero po kilku cyklach błona śluzowa macicy przyjmuje typowy obraz „endometrium podczas antykoncepcji”, czyli atroficznego nabłonka gruczołowego na podłożu krętych gruczołów podobnych fazie wydzielniczej¹⁶⁵. W badaniu z 20 µg EE i 2 mg octanu chlormadinonu zaobserwowano zmniejszenie grubości endometrium (średnia ± SD) z 10,2 ± 3,0 mm (cykl przedleczniczy) do 5,1 ± 1,5 mm (cykl 1), 5,3 ± 2,1 mm (cykl 3) i 4,1 ± 2,2 mm (cykl 6)¹⁶⁶. Tłumaczyłoby to dużą grubość endometrium zmierzoną w 20-21. d.c. w prezentowanym badaniu między 5,8 a 7,2 mm, ponieważ pacjentki były obserwowane tylko do 3 cykli. W pracy, w której porównano dwa preparaty 20 µg EE + 500 µg NET lub 20 µg EE + 150 µg DSG, nie stwierdzono istotnych różnic w grubości endometrium¹⁴⁹. W prezentowanym badaniu trójfazowa tabletkowa zawierająca od 30 do 40 µg EE oraz od 50 do 125 µg LNG w najmniejszym stopniu hamowała aktywność pęcherzykową jajników oraz wzrost endometrium. Poza właściwościami gestagennymi LNG dodatkowy wpływ mogła mieć niższa dawka gestagenu przez pierwsze dwa tygodnie stosowania w porównaniu do pozostałych preparatów monofazowych, a także najwyższa dawka EE w drugim tygodniu leczenia.

Podsumowując należy stwierdzić, że podczas stosowania DTA rozwój pęcherzyków jajnikowych nie jest zahamowany całkowicie i incydentalnie pęcherzyki mogą osiągać rozmiary przedowulacyjne. Wszystkie preparaty przy ścisłym stosowaniu skutecznie zapobiegały owulacji, różniły się jednak w stopniu supresji czynności pęcherzykowej i wzrostu grubości endometrium. Złożony preparat trójfazowy zawierający 30-40 µg EE i 50-125 µg LNG charakteryzował się mniejszymi właściwościami hamującymi niż preparaty o niższej dawce EE. Aż u 25% kobiet przyjmujących 30 µg EE i 75 µg GES występowały podczas terapii pęcherzyki powyżej 20 mm. Można podejrzewać, że stopień supresji pęcherzykowej zależy więc nie tylko od dawki EE, ale również od rodzaju gestagenu, choć dokładny mechanizm tego zjawiska pozostaje do końca niejasny. Przegląd dotychczasowego piśmiennictwa również nie pozwala na wyciągnięcie ostatecznych wniosków, ponieważ analizowane prace były bardzo heterogenne. Oceniały one bowiem różne parametry końcowe, takie jak: wielkość i liczba pęcherzyków, AFC, stężenia AMH, FSH, estradiolu, objętość

jajników, wskaźniki przepływów w naczyniach jajnikowych czy grubość endometrium. Badane preparaty również różniły się dawkami, drogami podania i długością stosowania. Konieczne są dalsze badania nad rozwojem pęcherzyków podczas stosowania DTA, które pozwolą na lepsze poznanie dokładnych mechanizmów leżących u podłoża antykoncepcji hormonalnej i wpływu różnych rodzajów gestagenów. Dodatkowo pogłębiona wiedza na temat rozwoju fal pęcherzykowych może mieć daleko idące implikacje dla diagnostyki i leczenia niepłodności. Rozwój więcej niż jednej fali pęcherzykowej podczas jednego cyklu może bowiem dostarczyć nowych możliwości w rozpoczynaniu protokołów stymulacji, a co za tym idzie bardziej skutecznych lub tańszych schematów leczenia. Choć aktualnie kobiety mają do wyboru wiele rodzajów preparatów o różnym składzie, dawkach i schematach stosowania, ciągle jeszcze jest pole do rozwoju w celu poprawy profilu korzyści do ryzyka DTA. Istnieje również potrzeba lepszego zrozumienia wpływu gestagenów na hemostazę oraz korelacji nowych preparatów zawierających naturalne estrogeny na ryzyko schorzeń sercowo-naczyniowych.

VIII WNIOSKI

1. Stwierdzono skuteczne hamowanie owulacji u wszystkich badanych kobiet niezależnie od przyjmowanego preparatu przy prawidłowym i bezbłędnym przyjmowaniu.
2. Rozwój pęcherzyków jajnikowych podczas doustnej antykoncepcji nie zawsze był zahamowany całkowicie i czasami wielkość niektórych pęcherzyków osiągała rozmiary przedowulacyjne.
3. Stopień supresji jajnikowej w trakcie leczenia DTA nie zależy wyłącznie od dawki EE, lecz prawdopodobnie również od zastosowanego gestagenu. Dokładny mechanizm tego zjawiska nie jest do końca jasny.

IX STRESZCZENIE

Doustna antykoncepcja dla kobiet oparta jest na dwóch zasadniczych formułach składu: tabletkach zawierających estrogeny i progestageny oraz tabletkach zawierających wyłącznie progestageny. Najczęściej stosowanym estrogenem jest etynyloestradiol (EE) w dawce od 15 do 40 µg, a progestageny to levonorgestrel, dezogestrel, drospirenon, gestoden, norgestymat lub octan chlormadinonu. Zasadniczym mechanizmem działania dwuskładnikowej tabletki antykoncepcyjnej (DTA) jest hamowanie osi podwzgórze – przysadka – jajnik, co skutkuje zmniejszeniem stężenia hormonu folikulotropowego (FSH) i hormonu luteinizującego (LH) i prowadzi do zmniejszenia aktywności pęcherzyków jajnikowych oraz zapobiega jajczkowaniu. Ponadto DTA zmniejszają przenikliwość śluzu szyjkowego dla plemników, utrudniając tym samym migrację plemników, a zmieniając endometrium zmniejszają prawdopodobieństwo implantacji. Od czasu wynalezienia DTA przeszła wiele modyfikacji mających na celu redukcję działań niepożądanych oraz zwiększenie poziomu akceptacji przy jednoczesnym zachowaniu skuteczności antykoncepcyjnej. Przy idealnym stosowaniu DTA skuteczność w zapobieganiu ciąży wynosi ponad 99%. Udowodniono jednak, iż redukcja dawki estrogenów, minimalizująca ilość działań niepożądanych, może zmniejszać również supresję osi podwzgórze – przysadka – jajnik, zwłaszcza podczas przerwy bez hormonów lub w przypadku pominięcia tabletki, co skutkuje większą aktywnością pęcherzykową jajników podczas stosowania antykoncepcji. Celem badania jest ocena zachowanej podczas antykoncepcji czynności jajników porównując 5 preparatów różniących się dawką EE i rodzajem progestagenu.

W otwartym, prospektywnym badaniu porównawczym przeprowadzonym w Poradni Ginekologicznej Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu przy ul. Polnej 33 oraz Poradni Ginekologiczno-Położniczej „Specjalistyki i Stomatologii” Sp. z o.o. Sp. k. w Środzie Wielkopolskiej ul. Wrzesińska 17 porównano wpływ 5 różnych preparatów DTA na profil hormonalny, grubość endometrium oraz na ilość i wielkość pęcherzyków jajnikowych w 3 kolejnych cyklach stosowania.

Do badania zakwalifikowano 89 zdrowych kobiet w wieku od 18 do 45 lat (śr. 27 lat) z prawidłowym indeksem masy ciała (śr. 23 kg/m²). Pacjentki charakteryzowały się regularnymi cyklami miesięczkowymi (26 do 34 dni), bez cech hiperandrogenizmu

i przeciwwskazań do doustnej antykoncepcji. Pacjentki przyjmowały przez 3 kolejne cykle preparat antykoncepcyjny. Przeanalizowano 249 z założonych 267 cykli leczenia.

Badaną populację podzielono na pięć grup w zależności od typu stosowanego preparatu: grupa I – 0,03 mg EE + 0,075 mg gestodenu (GES) , grupa II – 0,03 mg EE + 0,15 mg dezogestrelu (DSG), grupa III – 0,02 mg EE + 0,15 mg DSG, grupa IV – 0,035 mg EE + 0,25 mg norgestymatu (NGS), grupa V – trójfazowy preparat 0,03-0,04 mg EE + 0,05-0,125 mg levonorgestrelu (LNG). Tabletki były przyjmowane raz dziennie o tej samej porze od 1. dnia cyklu (d.c.) do 21. d.c. z następującą potem 7-dniową przerwą .

Wszystkie pacjentki były ocenione dwukrotnie w każdym cyklu w 1-2. d.c oraz 20-21. d.c. Stosując metodę ultrasonografii przezpochwowej zmierzono w dwóch wymiarach wszystkie pęcherzyki w obu jajnikach, określono ich liczbę i średnicę oraz zmierzono grubość błony śluzowej macicy. Ponadto oznaczono stężenia 17β -estradiolu (E_2) i FSH. Uzyskane wartości analizowanych parametrów zostały przedstawione jako średnie arytmetyczne wraz z odchyleniem standardowym ($\bar{X} \pm SD$)- przeniesiono. Do obliczeń statystycznych przeprowadzono test jednorodności wariancji Browna-Forsythe'a a następnie analizę wariancji ANOVA i porównania „*post-hoc*” testem Newman-Keulsa.

Analizą objęto ogółem 249 cykli stosowania preparatów antykoncepcyjnych. Najwyższe poziomy E_2 zarówno w 1-2. d.c. jak i w 20-21. d.c. zaobserwowano w grupie IV i V podczas gdy najniższe w grupie I i II. Różnice nie były istotne statystycznie. w przypadku FSH, w 1-2 d.c. stężenia tego hormonu w grupach I, II i V były niższe niż w grupach III i IV lecz również bez istotności statystycznej. Natomiast średnie stężenie FSH w 20-21. d.c. w IV grupie istotnie przewyższało ($p=0,006$) średnie stężenia FSH w grupach I, II i V. Następnie poddano ocenie liczbę pęcherzyków jajnikowych w 1-2. d.c. Największą ich liczbę stwierdzono w V grupie (13,7 pęcherzyka), a najmniejszą (12,2 pęch.) w grupie I, nie wykazano różnic statystycznie istotnych . Inaczej przedstawia się liczba pęcherzyków w 20-21. d.c. Podobnie najwięcej ich jest w grupie V (16,4 pęch.), zaś najmniejsza ich ilość jest w grupie III (12,6 pęch.). Mimo widocznego trendu sugerującego większą aktywność jajników w V grupie, nie stwierdzono aby różnice te były istotne. Różnice te wykazano natomiast w kolejnym parametrze aktywności jajników tj. średnicy pęcherzyków w 1-2. d.c. Średnia jej wartość w grupie V (4,6 mm) była istotnie wyższa niż w pozostałych grupach, odpowiednio 3,6 mm., 3,4 mm., 3,3 mm. i 3,4 mm. Pomimo iż, w 20-21. d.c. również średnia średnica pęcherzyków była największa w V grupie, różnica ta nie była już statystycznie istotna. Zbadano procentowy rozkład średnicy pęcherzyków w poszczególnych grupach. Małe pęcherzyki (od 9 do 12 mm) w 1-2. d.c. stanowiły ponad 60 % pęcherzyków we wszystkich

grupach. Średnich pęcherzyków (dwie podgrupy od 13 do 16 mm oraz od 17 do 20 mm) stwierdza się w grupie V. Największy procentowy udział dużych pęcherzyków (> 20 mm) występował w grupie I – 17,9%. W 20-21. d.c. pęcherzyki o średnicy od 9 – 12 mm również stanowiły co najmniej 60% wszystkich pęcherzyków w każdej z grup. Największy odsetek pęcherzyków wielkości od 13 – 16 mm występował w grupie V, zaś pęcherzyków od 17 – 20 mm w grupie II. Największa reprezentację dużych pęcherzyków (> 20 mm) stwierdzono ponownie w grupie I – aż 25%. Ostatnim ocenianym parametrem była grubość endometrium, która najwyższą średnią wartość w 1-2. d.c. osiągnęła w grupie V (4,7 mm) bez istotnej przewagi nad innymi grupami. Istotność tę wykazano natomiast w 20-21. d.c. gdzie grubość endometrium w grupie V (7,2 mm) była znacząco wyższa niż w wszystkich pozostałych ($p=0,000005$).

Podsumowując należy stwierdzić, że wszystkie preparaty przy bezbłędnym stosowaniu skutecznie zapobiegały owulacji, różniły się jednak w stopniu supresji czynności pęcherzykowej i wzrostu grubości endometrium. Złożony preparat trójfazowy zawierający 30-40 μg EE i 50-125 μg LNG charakteryzował się mniejszymi właściwościami hamującymi niż preparaty o niższej dawce EE. U 25% pacjentek przyjmujących preparat 30 μg EE i 75 μg GES występowały podczas terapii pęcherzyki powyżej 20 mm. Można podejrzewać, że stopień supresji pęcherzykowej zależy więc nie tylko od dawki EE, ale również od rodzaju gestagenu, choć dokładny mechanizm tego zjawiska pozostaje nie do końca jasny.

SUMMARY

Oral contraception (OC) for women is based on two possible preparations: combination estrogen-progestogen pills and progestogen-only pills. Ethinyl estradiol (EE) remains the most commonly used estrogen (at the dose of 15-40 μg), while levonorgestrel, desogestrel, drospirenone, gestodene, norgestimate or chlormadinone acetate are the most frequent progestogens. The main mechanism of action consists in controlling the activity of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis, which results in lowered concentrations of the FSH (follicle-stimulating) and LH (luteinizing) hormones, and leads to diminished follicle activity and inhibits ovulation. Furthermore, it reduces permeability of the cervical mucus, thus lowering sperm migration and alters endometrial receptivity, thus lowering the possibility of endometrial implantation.

Since its introduction, the combined oral contraceptive pill (COCP) has undergone numerous modifications aimed to reduce adverse effects and increase the acceptance level, while maintaining its efficacy. In case of ideal regimen adherence, the efficacy of COCP has been estimated at 99%. However, it has also been proven that reduced dose of the estrogens, which minimizes the number of adverse effects, may also lower the suppression of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. That effect has been observed especially in the event of a break from the pill or missed pill, which results in rapidly increased follicle activity.

The aim of the study was to evaluate ovarian activity in women using OC by comparing 5 medications with different EE doses and progestogen types.

A prospective open-label comparison study was conducted at the Gynecology Outpatient Clinic of Obstetrics and Gynecology Hospital, Poznań University of Medical Sciences, ul. Polna 33 and at the the Gynecology Outpatient Clinic of "Specjalistyka i Stomatologia" Sp. z o.o. Sp. k. Środa Wielkopolska, ul. Wrzesińska 17 . The effects of 5 different COC pills on the hormone profile, endometrial thickness, as well as follicular number and size in three consecutive cycles were investigated. A total of 89 healthy women (aged 18-45; mean: 27 years) with normal BMI (mean: 23 kg/m^2) were included in the study.

The subjects had regular menstrual cycles (26-34 days), with no evidence of hyperandrogenism and no contraindications to oral contraception. The patients received the pill for three consecutive cycles. A total of 249 (out of the assumed 267) treatment cycles were analyzed..

The study population was subdivided into 5 groups, depending on the type of medication: group I – 0.03 mg EE + 0.075 mg gestodene (GES), group II – 0.03 mg EE + 0.15 mg desogestrel (DSG), group III – 0.02 mg EE + 0.15 mg DSG, group IV – 0.035 mg EE + 0.25 mg norgestimate (NGS), and group V – tri-phase preparation of 0.03-0.04 mg EE + 0.05-0.125 mg levonorgestrel (LNG). All medicines were taken once a day, at the same time, from day 1 to day 21 of the cycle, followed by a 7-day break. All patients were evaluated twice in each cycle (days 1-2 and 20-21 of the cycle). A 2-dimensional ultrasound test was used to evaluate follicular number and diameter in both ovaries, as well as endometrial thickness. Also, 17 β -estradiol (E₂) and FSH concentrations were measured. Results are presented as means and standard deviation ($X \pm SD$) and the Brown-Forsythe test, followed by ANOVA and post-hoc Newman-Keuls test, were used for statistical analysis.

A total of 249 cycles of contraceptive treatment were analyzed. The highest E₂ levels both, on days 1-2 and 20-21, were observed in groups IV and V, while the lowest were noted in groups I and II. The differences were not statistically significant. As for FSH, day 1-2 concentration was lower in groups I, II and V as compared to groups III and IV, but also without statistical significance. Mean day 20-21 concentration in group IV was statistically significantly higher ($p=0.0006$) as compared to groups I, II, and V.

Mean follicular number on days 1-2 was the highest (13.7) in group V, and the lowest (12.2) in group I, without statistical significance. In turn, the number of ovarian follicles on days 20-21 was also the highest (16.4) in group V, but the lowest in group III (12.6). Despite a distinct tendency for higher ovarian activity in group V, no statistically significant differences were found.

Mean follicular size on days 1-2 (4.6 mm) was statistically significantly higher in group V as compared to the remaining groups (3.6 mm., 3.4 mm., 3.3 mm. and 3.4 mm, respectively). Mean follicular size on days 20-21 was also higher in group V, but the difference was not statistically significant. The percentage distribution of follicular diameter in all study groups was also investigated. On days 1-2, the small follicles (9-12 mm) constituted over 60% of all follicles in all groups. Medium follicles (two subgroups: 13-16 mm and 17-20 mm) were found in group V. The greatest number (17.9%) of large follicles (>20 mm) was observed in group I. On days 20-21, the small follicles (9-12 mm) also

constituted over 60% of all follicles in all groups. The greatest number of medium follicles was found in groups V (13-16 mm) and II (17-20 mm), respectively. The largest representation (25%) of large follicles (>20 mm) was again observed in group I.

Mean endometrial thickness on days 1-2 was the highest in group V (4.7 mm), without statistically significant differences as compared to other groups. However, on days 20-21 statistically significantly higher endometrial thickness was observed in group V (7.2 mm) as compared to the other groups ($p= 0.000005$).

In conclusion, all medicines effectively inhibited ovulation in case of ideal adherence but varied as far as suppression of ovarian follicular activity and endometrial thickness were concerned. The tri-phase preparation of 30-40 μg EE and 50-125 μg LNG revealed lower inhibitory properties as compared to lower EE dose medicines. Follicles with >20 mm diameter were observed in 25% of the women who used the 30 μg EE and 75 μg GES preparation. Thus, it seems safe to suggest that the level of follicular suppression depends not only on the EE dose but also the type of progestogen. Regardless, the exact mechanism of that phenomenon remains to be fully elucidated.

X PIŚMIENICTWO

1. Speidel JJ, Grossman RA. Family planning and access to safe and legal abortion are vital to safeguard the environment. *Contraception* 2007;76:415–417.
2. Alan Guttmacher Institute (AGI). *Sharing Responsibility: Women, Society, and Abortion Worldwide*. New York, NY: Alan Guttmacher Institute, 1999.
3. The World Health Report 2008 – Primary Health Care (Now More Than Ever) 2008. <http://www.who.int/whr/2008/en/index.html> [Accessed 11 June 2010].
4. United Nations Department of Economic and Social Affairs. *World contraceptive use 2007*. 2007.
5. Haberlandt E. Ludwig Haberlandt – a pioneer in hormonal contraception. *Wien Klin Wochenschr* 2009;121:746-749.
6. Veler CD, Thayer S, Doisy EA. The preparation of the crystalline follicular ovarian hormone: Theelin. *J Biol Chem* 1930;87:357-371.
7. Ball P. Carl Djerassi. *Nature* 2015;519:34.
8. White Junod S. FDA's Approval of First Oral Contraceptive, Enovid. *History of Products Regulation*. 1998 US Food & Drug Administration.
9. Fruzzetti F, Bitzer J. Review of clinical experience with estradiol in combined oral contraceptives. *Contraception* 2010; 81: 8–15.
10. Szarewski A, Mansour D, Shulman LP. 50 years of "The Pill": celebrating a golden anniversary. *J Fam Plann Reprod Health Care*. 2010;36:231-8.
11. Biswas J, Mann M, Webberley H. Oral contraception. *Obstet Gynaecol Reprod Med* 2008; 18:12: 317-323.
12. Nelson AL. Extended-cycle oral contraceptive pills with 10 microg ethinyl estradiol pills in place of placebo pills. *Womens Health (Lond Engl)* 2007;3:529–535.
13. Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 2003;46:S7–S16.
14. Ouzounian S, Verstraete L, Chabbert-Buffet N. Third-generation oral contraceptives: future implications of current use. *Expert Rev Obstet Gynecol* 2008;3:189–201.
15. Petitti DB. Clinical practice. Combination estrogen-progestin oral contraceptives. *N Engl J Med* 2003;349:1443–1450.
16. Sitruk-Ware R. Pharmacological profile of progestins. *Maturitas* 2004;47:277-83.
17. Sitruk-Ware R. Progestogens in hormonal replacement therapy: new molecules, risks, and benefits. *Menopause* 2002; 9 : 6–15.

18. Kuhl H. Comparative pharmacology of newer progestogens. *Drugs* 1996; 51 : 188–215.
19. Fuhrmann U, Krattenmacher R, Slater EP, Fritzscheier KH. The novel progestin drospirenone and its natural counterpart progesterone: biochemical profile and antiandrogenic potential. *Contraception* 1996; 54 : 243–251.
20. Sitruk-Ware R. New progestogens for contraceptive use. *Hum Reprod Update* 2006;12:169-78.
21. Burkman R, Bell C, Serfaty D. The evolution of combined oral contraception: improving the risk-to-benefit ratio. *Contraception* 2011; Article in press.
22. Guerra JA, Lopez-Munoz F, Alamo C. Progestins in Combined Contraceptives. *J Exp Clin Med* 2013;5:51-55.
23. Rosenberg MJ, Meyers A, Roy V. Efficacy, cycle control, and side effects of low- and lower-dose oral contraceptives: a randomized trial of 20 micrograms and 35 micrograms estrogen preparations. *Contraception* 1999;60:321–329.
24. Gallo MF, Nanda K, Grimes DA et al. 20 microg versus >20 microg estrogen combined oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Re* 2008; CD003989
25. Hoffmann H, Moore C, Zimmermann H et al. Approaches to the replacement of ethinylestradiol by natural 17 β -estradiol in combined oral contraceptives. *Exp Toxicol Pathol* 1998;50:458–464.
26. Koetsawang S, Mandlekar AV, Krishna UR et al. Task Force on Oral Contraceptives. A randomized, double-blind study of two combined oral contraceptives containing the same progestogen, but different estrogens. *Contraception* 1980;2:445–459.
27. Stanczyk FZ, Archer DF, Bhavnani BR. Ethinyl estradiol and 17 β -estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assessment. *Contraception* 2013;87:706-727.
28. Mishell DR Jr. Oral contraception: past, present, and future perspectives. *Int J Fertil* 1992;37:7-18.
29. Sidney S, Petitti DB, Quesenberry Jr CP et al. Myocardial infarction in users of low-dose contraceptives. *Obstet Gynecol* 1996;88:939-44.
30. Lidegaard O, Edstrom B, Kreiner S. Oral contraceptives and venous thromboembolism: a five-year national case-control study. *Contraception* 2002;65:187-196.

31. van Hylckama Vlieg A, Helmerhorst FM, Vanderbroucke JP et al. The venous thrombotic risk of oral contraceptives, effects of oestrogen dose and progestogen type: results of the MEGA case-control study. *BMJ* 2009;239:b2921.
32. Rosenberg L, Palmer JR, Lesko SM et al. Oral contraceptive use and the risk of myocardial infarction. *Am J Epidemiol* 1990;131:1009-1016.
33. Hirvonen E, Allonen H, Anttila M et al. Oral contraceptive containing natural estradiol for premenopausal women. *Maturitas* 1995;21:27-32.
34. Endrikat J, Parke S, Trummer D et al. Ovulation inhibition with four variations of a four-phasic estradiol valerate/dienogest combined oral contraceptive: results of two prospective, randomized, open-label studies. *Contraception* 2008;78:218-25.
35. Serfaty D, Christian Maitre S, Ochsenein E et al. Comparison of two regimens of new monophasic oral contraceptive combining 17 β -estradiol and norgestrel acetate. XIX FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics October 4-9, 2009. Cape Town (South Africa)
36. Van Vliet HA, Grimes DA et al. Biphasic versus triphasic oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD003283.
37. Van Vliet HA, Grimes DA, Helmerhorst FM et al. Biphasic versus monophasic oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD002032.
38. Klipping C, Duijkers I, Trummer D et al. Suppression of ovarian activity with a drospirenone-containing oral contraceptive in a 24/4 regimen. *Contraception* 2008;78:16–25.
39. Nakajima ST, Archer DF, Ellman H. Efficacy and safety of a new 24-day oral contraceptive regimen of norethindrone acetate 1 mg/ethinyl estradiol 20 microg (Loestrin 24 Fe). *Contraception* 2007;75:16–22.
40. Spona J, Elstein M, Feichtinger W et al. Shorter pill-free interval in combined oral contraceptives decreases follicular development. *Contraception* 1996;54:71–77.
41. Trussell J, Hatcher RA, Cates W Jr et al. A guide to interpreting contraceptive efficacy studies. *Obstet Gynecol* 1990;76:558–567.
42. Trussell J. Contraceptive failure in the United States. *Contraception* 2004;70:89–96.
43. Jennings HS. Biographical memoir of Raymond Pearl: 1879–1940. Anonymous National Academy of Sciences of the United States of America. Biographical Memoirs National Academy of Sciences. 1942:295–347.
44. Sheps MC. Characteristics of a ratio used to estimate failure rates: occurrences per person year of exposure. *Biometrics* 1966;22:310-321.

45. Potter RG. Application of life table techniques to measurement of contraceptive effectiveness. *Demography* 1966;3:297-304.
46. Edelman AB, Carlson NE, Cherala G et al, Impact of obesity on oral contraceptive pharmacokinetics and hypothalamic-pituitary-ovarian activity. *Contraception* 2009;80:19-127.
47. Burkman R, Fisher AC, Wan GJ et al. Association between efficacy and body weight or body mass index for two low-dose oral contraceptives. *Contraception* 2009;79:424-427.
48. Westhoff CL, Torgal AH, Mayeda ER et al. Ovarian suppression in normal-weight and obese women during oral contraceptive use: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2010;116:275-283.
49. Westhoff CL, Hait HI, Reape KZ. Body weight does not impact pregnancy rates during use of a low-dose extended-regimen 91-day oral contraceptive. *Contraception* 2012;85:235-239.
50. Trussel J, Portman D. The creeping pearl: why has the rate of contraceptive failure increased in clinical trials of combined hormonal contraceptive pills? *Contraception* 2013;88:604-610.
51. Kost K, Singh S, Vaughan B et al. Estimates of contraceptive failure from the 2002 National Survey of Family Growth. *Contraception* 2008;77:10–21.
52. Stanczyk FZ, Archer DF. Gestoden: a review of its pharmacology, potency and tolerability in combined contraceptive preparations. *Contraception* 2014;89:242-252.
53. The reduction in the risk of ovarian cancer associated with oral contraceptive use. The Cancer and Steroid Hormone Study of the Centers for Disease Control and the National Institute of Child Health and Human Development. *N Engl J Med* 1987;316:650-655.
54. Fernandez E, La Vecchia C, Franceschi S et al. Oral contraceptive use and risk of colorectal cancer. *Epidemiology* 1998;9:295-300.
55. Hulka BS, Chambless LE, Kaufman DG et al. Protection against endometrial carcinoma by combination product oral contraceptives. *JAMA* 1982;247:475-477.
56. ACOG Practice Bulletin No. 110: Noncontraceptive uses of hormonal contraceptives. *Obstet Gynecol* 2010;115:206–218.
57. 9th Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women

- with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996;347:1713-1727.
58. Moreno V, Bosch FX, Munoz N et al., Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359:1085-92.
59. Appleby P, Beral V, Berrington de Gonzales a et al. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 2007;370:1609-1621.
60. Baerwald AR and Pierson RA. Ovarian follicular development during the use of oral contraception: a review. *J Obstet Gynaecol Can* 2004;26(1):19-24.
61. Williams CJ & Erickson GF. Morphology and physiology of the ovary. NCBI Bookshelf. www.endotext.org 2012.
62. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1986;1:81-7
63. Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC i wsp. a new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum Reprod* 2008;23:699-708.
64. Gulyas BJ, Hodgen GD, Tullner WW i wsp. Effects of fetal and maternal hypophysectomy on endocrine organs and body weight in infant rhesus monkeys (*Macaca mullata*): with particular emphasis on oogenesis. *Biol Reprod* 1977;16:216-227.
65. Findley JK, Drummond AE. Regulation of the FSH Receptor in the ovary. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:183-188.
66. Oktay K, Newton H, Mullan J et al. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998;13:1133-1138.
67. Erickson GF, Magoffin DA, Dyer CA et al. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocr Rev* 1985;6:371-399.
68. Edwards RG. Follicular fluid. *J Reprod Fertil* 1974;37:189-219.
69. McNatty KP. Hormonal correlates of follicular development in the human ovary. *Aust J Biol Sci* 1981;34:249-68.

70. Erickson GF. Normal regulation of ovarian androgen production. *Semin Reprod Endocrinol* 1993;11:307-312. Erickson GF, Shimasaki S. The role of the oocyte in folliculogenesis. *Trends Endocrinol Metabol* 2000;11:193-198.
71. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. a new model for ovarian follicular development during the human menstrual cycle. *Fertil Steril* 2003;80:116-122.
72. Zeleznik AJ. The physiology of follicle selection. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:31.
73. Schipper I, Hop S, Fauser B. The follicle-stimulating hormone (FSH) threshold/window concept examined by different interventions with exogenous FSH during the follicular phase of the normal menstrual cycle: duration rather than magnitude, of FSH increase affects follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1292-1298.
74. Welt CK, Martin KA, Taylor AE et al. Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control in inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2645-52.
75. Adashi EY. Endocrinology of the ovary. *Hum Reprod* 1994;9:815-827.
76. Chikazawa K, Araki S, Tamada T. Morphological and endocrinological studies on follicular development during the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:305-313.
77. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996;17:121-155.
78. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum Reprod Update* 2012;18:73-91.
79. Thompson WE, Asselin E, Branch A et al. Regulation of prohibitin expression during follicular development and atresia in the mammalian ovary. *Biol Reprod* 2004;71:282-290.
80. Gougeon A, Testart J. Influence of human menopausal gonadotropin on the recruitment of human ovarian follicles. *Fertil Steril* 1990;54:848-852.
81. Eppig JJ. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 2001;122:829-838.
82. Baird D. a model for follicular selection and ovulation: lessons from superovulation. *J Ster Biochem* 1987;27:15-23.
83. Gougeon A. Qualitative changes in medium and large antral follicles in the human ovary during the menstrual cycle. *Annals Biol Anim Bioch Biophys* 1979;19:1464-1468.

84. Fauser BC, Van Heusden AM. Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences . *Endocr Rev* 1997; 18:71-106.
85. Groome NP, Illingworth PJ, O'brien M et al. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1401-1405.
86. Maman E, Meirou D, Brengauz M et al. Luteal phase oocyte retrieval and *in vitro* maturation is an optional procedure for urgent fertility reservation. *Fertil Steril* 2011;95:64-67.
87. Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO et al. Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biol Reprod* 2004;71:1195-1201.
88. Baerwald AR, Walker RA, Pierson RA. Growth rates of ovarian follicles during natural menstrual cycles, oral contraception cycles, and ovarian stimulation cycles. *Fertil Steril* 2009;91:440-449.
89. Gougeon A. Ovarian follicular growth in humans: ovarian ageing and population of growing follicles. *Maturitas* 1998;30:137-142.
90. Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY et al. Reproductive ageing: accelerated ovarian follicular development associated with monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1038-1045.
91. Beemsterboer SN, Homburg R, Gorter NA et al. The paradox of declining fertility but increasing twinning rates with advanced maternal age. *Hum Reprod* 2006;21:1531-1532.
92. Brodin T, Bergh T, Berglund L et al. Menstrual cycle length is an age-independent marker of female fertility: results from 6271 treatment cycles of *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2008;90:1656-1561.
93. Gougeon A. The biological aspects of risks of infertility due to age: the female side. *Revue d'épidemiologie et de santé publique* 2005;53:2S37-2S45.
94. Van Zonneveld P, Scheffer GJ, Broekmans FJ et al. Do cycle disturbances explain the age related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged over 40 years compared with a reference population of young women. *Hum Reprod* 2003;18:495-501.
95. D'Arpe S, Di Feliciano M, Candelieri M et al., Ovarian function during hormonal contraception assessed by endocrine and sonographic markers: systematic review. *Reprod BioMed Online* 2016;3: 436-448.
96. Tafurt CA, Sobrevilla LA, de Estrada R. Effects of progestin-estrogen combination and progestational contraceptives on pituitary gonadotropins, gonadal steroids and sex hormone-binding globulin. *Fertil Steril* 1980; 33: 261-266.

97. Koering MJ, Danforth DR, Hodgen GD. Early follicle growth in the juvenile macaca monkey ovary: the effects of estrogen priming and follicle-stimulating hormone. *Biol Reprod* 1994; 50: 686-694.
98. Barnhart K, Devoto L, Pommer R i wsp. Neuroendocrine mechanism of anovulation in users of contraceptive subdermal implant of nomegestrol acetate (uniplant). *Fertil Steril* 1997;67:250-255
99. Broome M, Clayton J, Fotherby K. Enlarged follicles in women using oral contraceptives. *Contraception* 1995;52:13-16.
100. Crosignani PG, Testa G, Vegetti w et al. Ovarian activity during regular oral contraceptive use. *Contraception* 1996;54:271-3.
101. Elstein M, Briston PG, Jenkins M et al. Effects of a low-oestrogen oral contraceptive on urinary excretion of luteinizing hormone and ovarian steroids. *Br Med J* 1974;1:11-13.
102. Teichmann AT, Brill K, Albring M i wsp. The influence of the dose of ethinylestradiol in oral contraceptives on follicle growth. *Gynecol Endocrinol* 1995;9:299-305.
103. Killick SR Ovarian follicles during oral contraceptive cycles: their potential for ovulation. *Fertil Steril* 1989;52:580-582.
104. Baerwald AR, Olatunbosun OA, Pierson RA. Ovarian follicular development is initiated during the hormone-free interval of oral contraceptive use. *Contraception* 2004;70:371-377.
105. Spellacy WN, Kalra PS, Buhi WC i wsp. Pituitary and ovarian responsiveness to graded gonadotropin releasing factor stimulation test in women using a low-estrogen or a regular type of oral contraceptive. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137:109-115.
106. Rabe T, Nitsche DC, Runnebaum B. The effects of monophasic and triphasic oral contraceptives on ovarian function and endometrial thickness. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 1997;2:39-51.
107. Vandever MA, Kuehl TJ, Sulak PJ et al. Evaluation of pituitary-ovarian axis suppression with three oral contraceptive regimens. *Contraception* 2008;77:162-70.
108. Rible RD, DeShawn T, Wilson ML i wsp. Follicular development in a 7-day versus 4-day hormone free-interval with an oral contraceptive containing 20 mcg ethinyl estradiol and 1 mg norethindrone acetate. *Contraception* 2009;79:182-188.

109. Van Heusden AM, Fauser BC. Activity of the pituitary-ovarian axis in the pill-free interval during use of low-dose combined oral contraceptives. *Contraception* 1999; 59:237-43.
110. Van Heusden AM, Coelingh Bennink HJ, Fauser BC. FSH and ovarian response: spontaneous recovery of pituitary-ovarian activity during the pill-free period vs. exogenous recombinant FSH during high-dose combined oral contraceptive. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;56:509-517.
111. Spona J, Binder N, Hörschen K i wsp. Suppression of ovarian function by a combined oral contraceptive containing 0,02 mg ethinyl estradiol and 2 mg chlormadinon acetate given in a 24/4-day intake regimen over three cycles. *Fertil Steril* 2010;94:1195-201.
112. Sullivan H, Furniss H, Spona J et al. Effect of 21-day and 24-day oral contraceptive regimens containing gestodene (60 microg) and ethinyl estradiol (15 microg) on ovarian activity. *Fertil Steril* 1999;72:115-120.
113. Killick SR, Bankroft K, Oelbaum S i wsp. Extending the duration of the pill-free interval during combined oral contraception. *Adv Contracept* 1990;6:33-40.
114. Creinin MD, Lippman JS, Eder SE et al. The effect of extending the pill-free interval on follicular activity: triphasic norgestimate/35microg ethinyl estradiol versus monophasic Levonorgestrel/20 microg ethinyl estradiol. *Contraception* 2002;66:147-152.
115. Elomaa K, Rolland R, Brosens i et al. Omitting the first oral contraceptive pills of the cycle does not automatically lead to ovulation. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:41-46.
116. Van Heusden AM, Fauser BC Residual ovarian activity during oral steroid contraception. *Hum Reprod Update* 2002;8:345-58.
117. Reape KZ, DiLiberti CE, Hendy CH et al. Effects on serum hormone levels of low-dose estrogen in place of placebo during the hormone-free interval of an oral contraceptive. *Contraception* 2008;77:34-39.
118. Killick SR, Fitzgerald C, Davis A. Ovarian activity in women taking oral contraceptive containing 20 microg ethinyl estradiol and 150 microg dezogestrel: effects of low estrogen doses during the hormone-free interval. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:18-24.
119. Birtch RL, Olatunbosun OA, Pierson RA. Ovarian follicular dynamics during conventional vs. continuous oral contraception use. *Contraception* 2006;73:235-243.

120. Legro RS, Pauli JG, Kunselman AR et al. Effects of continuous versus cyclical oral contraception: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:420-429.
121. Deb S, Campbell BK, Pincott-Allen C et al. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-Müllerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;39:574-580.
122. Baerwald AR, Olatunbosun OA, Pierson RA. Ovarian follicular development during the use of oral contraception. Proceedings of the 59th. Annual Meeting of the Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada.. Abstract:O11; Charlottetown – Prince Edward Island; 2003.
123. Baerwald AR, Olatunbosun OA, Pierson RA. Effects of oral contraceptives administered at defined stages of ovarian follicular development. *Fertil Steril* 2006;86:27-35.
124. Ginther OJ, Beg MA, Bergfeld DR et al. Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod* 2001;65:638-647.
125. Croxatto HB, Fuentealba B, Brache V et al. Effects of the Yuzpe regimen, given during the follicular phase, on ovarian function. *Contraception* 2002;65:121-128.
126. Elomaa K, Rolland R, Brosens i et al. Omitting the first oral contraceptive pills of the cycle does not automatically lead to ovulation. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:41-46.
127. Elomaa K, Lähteemäkki P. Ovulatory potential of preovulatory sized follicles during oral contraceptive treatment. *Contraception* 1999;60:275-279.
128. Duijkers I, Verhoeven C, Dieben T i wsp. Fillicular growth during contraceptive pill or vaginal ring treatment depends on the day of ovulation in the pretreatment cycle. *Hum Reprod* 2004;19:2674-79.
129. Hoogland HJ, Skouby SO. Ultrasound evaluation of ovarian activity under oral contraceptives. *Contraception* 1993;47:583-590.
130. Holt VL Cushing-Haugen KL, Daling JR. Oral contraceptives, tubal sterilization, and functional ovarian cyst risk. *Obstet Gynecol* 2003;102:252-258.
131. Lanes SF, Birmann B, Walker AM et al. Oral contraceptive type and functional ovarian cysts. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:956-961.
132. Bentzen JG, Forman JL, Pinborg a et al. Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reprod Biomed Online* 2012;25:612-619.

133. Arbo E, Vetori DV, Jimenez MF et al. Serum anti-mullerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills. *Hum Reprod* 2007;22:3192-3196.
134. Kallio S, Puurunen J, Ruukonen a et al. Antimullerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertil Steril* 2013;99:1305-1310.
135. Kristensen SL, Ramlau-Hansen CH, Andersen CY et al. The association between circulating levels of antimullerian hormone and follicle number, androgens, and menstrual cycle characteristics in young women. *Fertil Steril* 2012;97:779-785.
136. Panidis D, Georgopoulos NA, Piouka a et al. The impact of oral contraceptives and metformine on anti-Müllerian hormone serum levels in women with polycystic ovary syndrome and biochemical hyperandrogenemia. *Gynecol Endocrinol* 2011;27:587-592.
137. Li HWR, Wongb CYG, Yeunga WSB et al. Serum and anti-müllerian hormone level is not altered in women using hormonal contraceptives. *Contraception* 2011;83:582-585.
138. Seifer DB, MacLaughlin DT. Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril* 2007;88:539-546.
139. Somunkiran A, Yavus T, Yucel o et al. Anti-mullerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;134:196-201.
140. Strueli I, Fraisse T, Pillet C et al. Serum antimullerian hormone levels remain stable throught the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2008;90:395-400.
141. Van der Berg MH, Van Dulmen-den Broeder E, Overbeek a et al. Comparison of ovarian function markers in users of hormonal contraceptives during the hormone free interval and subsequent natural early follicular phases. *Hum Reprod* 2010;25:1520-1527.
142. Fukuda M, Fukuda K, Andersen CY et al. Right- sided ovulation favours pregnancy more then left-sided ovulation. *Hum Reprod* 2000;15:1921-6.
143. Ecochard R, Gougeon A. Side of ovulation and cycle characteristics in normally fertile women. *Hum Reprod* 2000;15:752-5.

144. Deb S, Kannamannadiar J, Campbel BK et al. The interovarian variation in three-dimensional ultrasound markers of ovarian reserve in women undergoing baseline investigation for subfertility. *Fertil Steril* 2011;95:667-672.
145. Jakoubkiene L, Sladkievicius P, Valentin L. Ovarian size and vascularization as assessed by three-dimensional greyscale and power Doppler ultrasound in asymptomatic women 20-39 years old using combined oral contraceptives. *Contraception* 2012;86:257-267.
146. Fukuda M, Fukuda K, Andersen CY et al. Contralateral selection of dominant follicle favours pre-embryo development. *Hum Reprod* 1996;11:1958-1962.
147. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Therio* 1989;32:787-95.
148. Fitzgerald C, Feichtinger W, Spona J et al. a comparison of the effects of two monophasic low-dose oral contraceptives on the inhibition of ovulation. *Adv Contracept* 1994;10:5-18.
149. Rossmannith WG, Steffens D, Schramm G. a comparative randomized trial on the impact of two low-dose oral contraceptives on ovarian activity, cervical permeability, and endometrial receptivity. *Contraception* 1997;56:23-30.
150. Coffee AL, Sulak PJ, Kuchl TJ. Long-term assessment of symptomatology and satisfaction of an extended oral contraceptive regimen. *Contraception* 2007;75:444-449.
151. Yonkers K, Brown C, Pearlstein T et al. Efficacy of a new low-dose oral contraceptive with drospirenone in premenstrual dysphoric disorder. *Am J Ob Gyn* 2005;106:492-501.
152. Stanczyk FZ. All progestins are not created equal. *Steroids* 2003;68:879-90.
153. Kuhnz W, Huener A, Humpel M et al. In vivo conversion of norethisterone and norethisterone acetate to ethinyl estradiol in post menopausal women. *Contraception* 1997;56:379-385.
154. Kumar N, Koide SS, Tsong YY et al. Nesterone®: a progestin with a unique pharmacological profile. *Steroids* 2000;65:629-36.
155. Darney PD The androgenicity of progestins. *Am J Med* 1995;98:104S-110S.
156. Philibert D, Bouchoux F, Degryse M i wsp. The pharmacological profile of a novel norpregnane progestin (trimegestone). *Gynecol Endocrinol* 1999;13:316-26.
157. Tauber U, Tack JW, Matthes H. Single dose pharmacokinetics of gestodene in women after intravenous and oral administration. *Contraception* 1989;40:461-79.

158. Refn H, Kjaer A, Lebech AM i wsp. Clinical and hormonal effects of two contraceptives: correlation to serum concentration of levonorgestrel and gestoden. *Contraception* 1990;41:259-69
159. Dusterberg B, Humer M, Speck U. Terminal half-lives in plasma and bioavailability of norethisterone, Levonorgestrel, cyproterane acetate and gestodene in rats, beagles and rhesus monkeys. *Contraception* 1981;24:673-83.
160. Kuhl H. Comparative pharmacology of newer progestogens. *Drugs* 1996;51:188-215.
161. Kemmeren JM, Algra A, Meijers JCM et al. Effects of second and third generation oral contraceptives and their respective progestagens on the coagulation system in the absence or presence of factor V Leiden mutation. *Thromb Haemost* 2002;87:199-205.
162. Odland V, Milsom I, Persson et al, Can changes in sex hormone binding globulin predict the risk of venous thromboembolism with combined oral contraceptive pills? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002;81:482-490.
163. Mashchak CA, Lobo RA, Dozono-Takano R et al. Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. *Am J Obstet Gynecol* 1982;144:482-490.
164. Cherala G, Edelman A, Dorflinger et al. The elusive minimum threshold concentration of Levonorgestrel for contraceptive efficacy. *Contraception* 2016;94:104-108.
165. Dinh A, Sriprasert I, Williams a i wsp. a review of the endometrial histologic effects of progestins and progesterone receptor modulators in reproductive age women. *Contraception* 2015;91:360-367
166. Rabe T, Hartschuh E, Wahlstrom T i wsp. Endometrial safety of a novel monophasic combined oral contraceptive containing 0,02 mg ethinylestradiol and 2 mg chlormadinone acetate administered in a 24/4-day regimen over six cycles. *Contraception* 2010;82:358-365.