

# Bioaktivne biljne sastavnice i mikronutrijenti za ublažavanje simptoma endometrioze

---

Filipović Radošević, Petra

Professional thesis / Završni specijalistički

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:126070>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Petra Filipović Radošević

**BIOAKTIVNE BILJNE SASTAVNICE I MIKRONUTRIJENTI  
ZA UBLAŽAVANJE SIMPTOMA ENDOMETRIOZE**

Specijalistički rad

Zagreb, 2021.

Poslijediplomski specijalistički studij: **Fitofarmacija s dijetoterapijom**

Mentorica rada: prof. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević

Specijalistički rad obranjen je dana \_\_\_\_\_ na Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

- 1.
- 2.
- 3.

Rad ima 90 listova.

Specijalistički rad na poslijediplomskom specijalističkom studiju „Fitofarmacija s dijetoterapijom“ prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Sande Vladimir-Knežević.

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Vladimir-Knežević, čija je neiscrpna ljubav prema struci svima nama inspiracija, na stručnim savjetima i vremenu koje je izdvojila za izradu ovog rada.*

*Zahvaljujem Gradskoj Ljekarni Zagreb na iskazanom povjerenju.*

*Hvala obitelji na potpori, a najviše Davorinu na strpljenju i motivaciji. Kolegama i kolegicama sa specijalističkog studija hvala za nesebično dijeljenje korisnih informacija.*

*Ovaj mi je rad dao odgovore na neka osobna pitanja i potaknuo na daljnje istraživanje.*

## **SAŽETAK**

### **Cilj istraživanja**

Cilj ovog specijalističkog rada je dati sveobuhvatan pregled znanstvenih spoznaja o učincima i mehanizmima djelovanja bioaktivnih biljnih sastavnica i mikronutrijenata na ublažavanje simptoma endometrioze kako bi se prema znanstveno utemeljenim dokazima mogli donijeti relevantni zaključci o njihovom potencijalu terapijske primjene.

### **Materijali i metode**

Istraživanje u okviru specijalističkog rada je teorijskog karaktera i uključuje pregled dostupne stručne i znanstvene literature o predloženoj temi. Pretražene su dostupne elektronske baze podataka na engleskom jeziku: PubMed, Scopus, ScienceDirect, Cochrane. Prikupljeni podaci obuhvatili su pretklinička i klinička ispitivanja koja su zatim sistematično prikazana.

### **Rezultati**

U sklopu ovog specijalističkog rada prikazani su rezultati nekliničkih i manje brojnih kliničkih istraživanja kurkumina, resveratrola, epigalokatehin-3-galata, krocina i genisteina te ekstrakata konopljikina ploda, vrkutine zeleni i kore primorskog bora. Bioaktivne biljne sastavnice i biljni ekstrakti razmatrani u ovom radu pokazali su antiproliferativne, proapoptotske, antiangiogenetske, protuupalne i antioksidacijske učinke u uvjetima *in vitro* i *in vivo*. Istaknut je potencijal alfa-lipoične kiseline, vitamina C, E i D, melatonina te akupunktura i višekomponentnih smjesa tradicionalne kineske medicine. No, postojeći klinički dokazi nedovoljno podupiru njihovu praktičnu primjenu za ublažavanje simptoma endometrioze.

### **Zaključci**

Iako razina kliničkih dokaza o djelovanju bioaktivnih biljnih sastavnica i mikronutrijenata u endometriozu nije zadovoljavajuća, tradicionalna primjena i dosadašnje znanstvene spoznaje ukazuju na njihov veliki potencijal i ohrabruju daljnja klinička istraživanja.

## **SUMMARY**

### **Objectives**

The objective of this research is to provide a comprehensive overview of scientific knowledge on the effects and mechanisms of action of bioactive plant components and micronutrients on the alleviation of endometriosis symptoms in order to draw relevant conclusions about their potential for therapeutic application.

### **Materials and methods**

Research in this paper is a theoretical one and includes a detailed overview of the available professional and scientific data on the topic. Relevant bibliographic database in English language, such as PubMed, Scopus, ScienceDirect and Cochrane were searched. The collected data included preclinical and clinical trials, which were then presented systematically.

### **Results**

This work presents the results of nonclinical and a small number of clinical studies of curcumin, resveratrol, epigallocatechin-3-gallate, crocin, genistein and extracts of *Agnus castus* fruit, *Alchemilla* and French maritime pine bark. The bioactive plant components and plant extracts considered in this work demonstrated *in vitro* and *in vivo* antiproliferative, proapoptotic, antiangiogenic, anti-inflammatory and antioxidant effects. The potential of alpha-lipoic acid, vitamins C, E and D, melatonin, acupuncture and multi-component mixtures of TCM was also highlighted. However, the clinical evidence does not sufficiently support their practical application to alleviate the symptoms of endometriosis.

### **Conclusion**

Although the level of clinical evidence on the effect of bioactive plant components and micronutrients in endometriosis is insufficient, traditional use and current scientific knowledge indicate their great potential and encourage further clinical research.

## SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA .....	1
1.1. Definicija i prevalencija endometrioze .....	1
1.2. Patogeneza endometrioze .....	4
1.3. Čimbenici rizika za nastanak endometrioze .....	5
1.4. Dijagnostika endometrioze .....	7
1.5. Simptomi endometrioze .....	9
1.5.1. Bol .....	10
1.5.2. Neplodnost .....	11
1.5.3. Umor, iscrpljenost i glavobolja .....	12
1.6. Metode liječenja endometrioze .....	13
1.6.1. Lijekovi .....	13
1.6.2. Kirurško liječenje .....	15
1.6.3. Kombinacija lijekova i kirurškog liječenja .....	16
1.6.4. Nefarmakološke mjere: uloga prehrane u ublažavanju simptoma endometrioze .....	17
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	19
3. MATERIJALI I METODE .....	20
4. REZULTATI – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI .....	21
4.1. Bioaktivne biljne sastavnice .....	21
4.1.1. Kurkumin .....	21
4.1.2. Resveratrol .....	27
4.1.3. Epigalokatehin-3-galat (EGCG) .....	32
4.1.4. Krocin .....	35
4.1.5. Genistein .....	37
4.2. Biljni ekstrakti .....	40
4.2.1. Konopljin plod .....	40
4.2.2. Vrkutina zelen .....	42
4.2.3. Ekstrakt kore primorskog bora (piknogenol) .....	44
4.2.4. Ostale biljne vrste .....	47
4.3. Mikronutrijenti .....	48
4.3.1. Antioksidansi .....	48
4.3.2. Vitamin D .....	55
4.3.3. Melatonin .....	61
4.3.4. Kombinirani pripravak .....	63
4.4. Tradicionalna kineska medicina .....	65
5. RASPRAVA .....	71
6. ZAKLJUČCI .....	74
7. LITERATURA .....	75
8. ŽIVOTOPIS .....	84

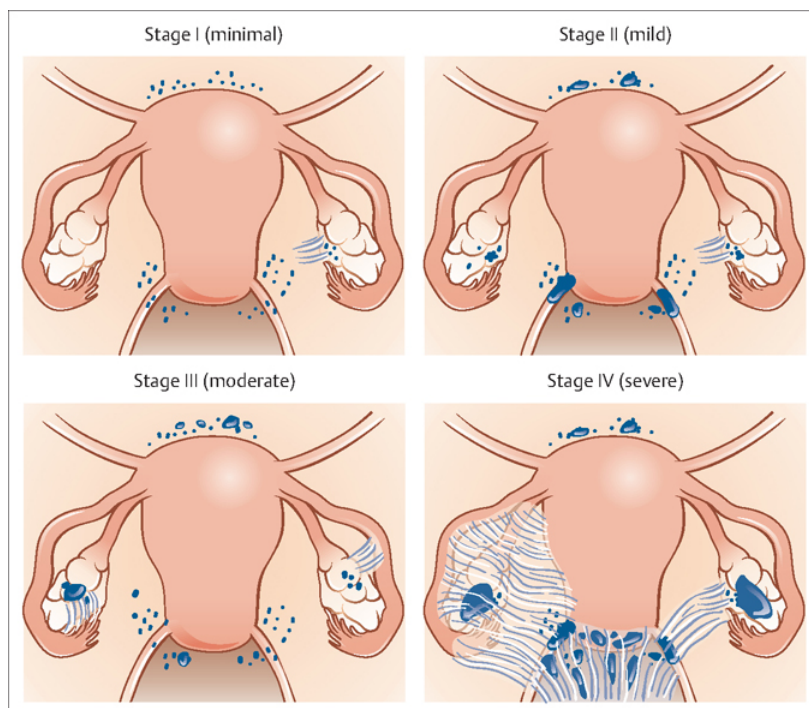
# 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

## 1.1. DEFINICIJA I PREVALENCIJA ENDOMETRIOZE

Endometrioza je kronična, kompleksna i progresivna bolest koju karakterizira pojava endometrija na mjestima izvan maternice. Žarišta se mogu naći na jajnicima, jajovodima, peritoneumu, potrbušnici male zdjelice te okolnim ili udaljenim organima. Riječ endometrioza dolazi od riječi endometrij koja označava sluznicu maternice, odnosno sloj stanica koji oblaže šupljinu maternice i ima ulogu pri implantaciji zametka. Ukoliko do oplodnje nije došlo, taj sloj se svaki mjesec ljušti (menstruacija) i priprema za novi ciklus. Ove su stanice osjetljive na djelovanje hormona pa se na ektopičnim mjestima ponašaju isto kao i u maternici- rastu i krvare, što je uzrok kronične boli i nastanka ožiljaka i priraslica. Prema najnovijim spoznajama endometrioza se smatra neuroupalnim poremećajem ovisnim o estrogenu (1).

Eutopični endometrij u pacijentica s ovom bolešću razlikuje se od onog u zdravih žena jer posjeduje sposobnost stimuliranja rasta stanica izvan maternice. Postoji nekoliko klasifikacijskih sustava bolesti, no nijedan od njih nije jednostrano prihvaćen. Američko društvo za reproduktivnu medicinu donosi najšire prihvaćen sustav prema kojem se težina endometrioze ocjenjuje ovisno o dubini, veličini i konzistenciji prisutnih priraslica. Na temelju bodova sustav klasificira endometrioze u četiri stadija: minimalni, blagi, umjereni i teški oblik (2). Slika 1 prikazuje klasifikaciju endometrioze prema četiri stadija. Uz ovaj sustav tijekom godina razvijeni su još i ENZIAN bodovni sustav, EFI sustav (engl. *Endometriosis Fertility System*) te AAGL klasifikacija (engl. *American Association of Gynecologic Laparoscopists*). Dobro organiziran i jednostavan klasifikacijski sustav uvelike bi olakšao komunikaciju među liječnicima i omogućio standardizaciju odgovarajuće strategije liječenja. Uz idealan klasifikacijski sustav liječnici bi pacijenticama mogli točno prikazati obujam bolesti i anatomske značajke te predvidjeti intenzitet simptoma poput boli i neplodnosti (3).





Slika 1. Klasifikacija endometrioze

(<https://www.asrm.org/topics/topics-index/endometriosis/>)

Prevalenciju endometrioze u žena reproduktivne dobi teško je točno odrediti, ali se smatra da iznosi 10-15 %. Neki od simptoma su dismenoreja (ciklička bol tijekom menstruacije), dispareunija (bol pri koitusu), dishezija (bol koja se javlja pri pokretima crijeva), neciklička, kronična zdjelična bol i neplodnost. Najčešći simptom s kojim se pacijentice suočavaju je kronična zdjelična bol. Endometrioza se dijagnosticira u 70 % žena koje pate od kronične zdjelične boli, a dijagnoza endometrioze podrazumijeva i neplodnost u 30-50 % žena. Objašnjenje tako visokih postotaka mogu biti patološke promjene u samom endometriju pacijentica, ponekad udružene sa slabijom kvalitetom jajnih stanica, smanjenom receptivnošću maternice i povećanom ekspresijom biomakera (4). Štoviše, prema nekim istraživanjima, endometrioza je vodeći uzrok spontanog pobačaja i neuspješne implantacije oplođenog jajašca (5).

Nastajanje i preživljavanje ektopičnih lezija najviše ovisi o osnovnim biološkim procesima kao što su proliferacija, apoptoza, upala i angiogeneza. U usporedbi s normalnim endometrijom, stanična proliferacija je pojačana u novonastalim lezijama, a stanice su otpornije na apoptozu. Takva neravnoteža između nastajanja i smrti stanica dovodi do nekontroliranog rasta tkiva. Jedna od bitnijih poveznica bolesti je upala koju karakterizira izmijenjena funkcija imuniteta i povišeni broj aktiviranih imunskih stanica. Izmjenom mehanizma imunosne obrane organizma umanjuje se mogućnost trudnoće i omogućava daljnje preživljavanje ektopičnog tkiva. Još jedan bitan proces u patogenezi endometrioze je angiogeneza jer je urastanje mikrovena u ektopično tkivo ključni preduvjet za njegovo preživljenje i daljnji rast. Tako su znanstvena ispitivanja na primjerima eksperimentalne endometrioze pokazala uspješnu inhibiciju daljnjeg rasta ektopičnog tkiva primjenom antiangiogene terapije (6).

Uz proces angiogeneze, u regulaciji staničnih procesa u endometriozu tijesno surađuju steroidni hormoni i imunski sustav. Peritonealna tekućina u žena s endometriozom sadrži povišene razine vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF), proteina kojeg otpuštaju i tkivo lezije i peritonealni makrofazi, a koji je odgovoran za rast novih krvnih žila. VEGF potiče aktivnost COX-2 u stanicama endometrioze, a estrogen i COX-2 zauzvrat pojačavaju aktivnost VEGF-a i matriks metaloproteinaza (MMP). Ovakav začarani krug održava povišene koncentracije prostaglandina E<sub>2</sub>, poznatog medijatora upalnih procesa i boli u tkivima endometrioze. Najčešći farmakološki pristup u liječenju endometrioze je snižavanje razina hormona estrogena uvođenjem oralnih kontraceptiva, progestina ili agonista gonadotropin oslobađajućeg hormona. Zbog čestih neželjenih učinaka ovakav pristup ne pruža zadovoljavajuća rješenja. Drugi izbor za pacijentice predstavlja kirurško uklanjanje lezija, čija je mana visoki stupanj recidiva, čak do 50 % unutar pet godina od operacije (7).

## 1.2. PATOGENEZA ENDOMETRIOZE

Jedinstvena teorija o podrijetlu endometrioze i dalje ostaje nedokučiva, pa su u daljnjem tekstu navedene samo neke od brojnih teorija koje pokušavaju objasniti histopatogenezu bolesti. Sampsonova implantacijska teorija iz 1927. nastanak endometrioze tumači protokom krvi i stanica endometrija koje tijekom menstruacije idu retrogradno kroz jajovod (retrogradni refluks). Stanice se implantiraju na peritonealnu površinu abdominalnih i zdjeličnih organa. Refluks menstruacijske krvi nije rijetka pojava u žena, tako da ova teorija ne objašnjava zašto se u nekih skupina žena od toga razvije bolest, a u drugih ne. Zanimljiva studija je analizirala menstrualnu krv zdravih i bolesnih žena te otkrila biološke i genetske razlike u stanicama krvi, što bi donekle moglo objasniti zašto se endometrioza razvije samo u određenoj skupini žena (8). Nastanak endometrioze objašnjava i teorija celomne metaplazije koja podrazumijeva transformaciju normalnog peritonealnog tkiva u ektopično tkivo endometrija. Potencijalni kandidati odgovorni za ovakvu transformaciju svakako su endokrini disruptori, međutim, pravi uzročnici još nisu potvrđeni (9). Treća teorija govori o mogućoj autoimunoj naravi bolesti i postavljena je zbog pronađenih promjena u imunskim procesima u žena koje boluju od endometrioze. Nadalje, teorija o poligenskom nasljeđivanju temelji se na statističkim podacima budući da žene s pozitivnom obiteljskom anamnezom endometrioze imaju sedam puta veći rizik oboljenja. Na kraju, smatra se da je povećana oksidacija lipoproteina još jedan od mogućih uzroka nastanka jer kisikovi radikali uzrokuju lipidnu peroksidaciju koja dovodi do oštećenja deoksiribonukleinske kiseline (DNK) endometrijskih stanica. Ova bolest je heterogena i na mehanizam nastanka i širenje utječu mnogi unutarnji (genetski, hormonski, biokemijski, imunološki), ali i vanjski čimbenici. Znanstvenici zaključuju kako samo jedan etiopatogenetski model ne može objasniti kompleksni nastanak endometrioze (10).

### 1.3. ČIMBENICI RIZIKA ZA NASTANAK ENDOMETRIOZE

Istraživanja pokazuju da rana menarha i kratki menstrualni ciklusi povećavaju rizik za nastanak endometrioze u kasnijoj životnoj dobi. Što ranije mlada žena dobije prvu menstruaciju, to je duže izložena istovremenoj retrogradnoj menstruaciji (protok menstrualne krvi iz maternice retrogradno kroz jajovode u peritonealnu šupljinu), a s tim dolazi i do neravnoteže njezinog hormonskog statusa (11). Indeks tjelesne mase (ITM) u mladosti i rizik za endometriozu imaju obrnuto proporcionalni odnos. Rezultati su otkrili da su djevojčice s višim ITM u djetinjstvu kasnije imale niži rizik od endometrioze, dok se kod mršavijih i viših djevojčica češće dijagnosticirala bolest. Stručnjaci to objašnjavaju porastom hormona estrogena koji je ključan za ubrzanje vertikalnog rasta tijekom puberteta, a poznato je i da taj hormon potiče rast stanica endometrija (12). Moguće je da postoji veza između bavljena fizičkom aktivnošću i rizika, međutim, nađeni podaci su kontradiktorni. Jedna je studija pokazala da u doba adolescencije tjelovježba visokog intenziteta može dovesti do povećanog rizika za razvoj bolesti. Novije pak analize pokazuju da vježbanje u odrasloj dobi ima skromni, statistički neznačajan utjecaj na smanjenje rizika (12, 13).

Promjene razina hormona tijekom trudnoće i dojenja mogu spriječiti ili smanjiti rast tkiva endometrija izvan maternice. Nadalje, tijekom trudnoće dolazi do značajnih morfoloških i funkcionalnih promjena stanica endometrija te dilatacije cerviksa tijekom samog poroda, čime se smanjuje volumen buduće retrogradne menstruacije. Trudnoća je idealan izbor liječenja ove bolesti mnogih žena reproduktivne dobi, međutim, zbog komplikacija koje endometriozu donosi, u većini slučajeva nije lako ostvariva prirodnim putem (15). Žena koje trudnoću još ne planiraju rizik od endometrioze mogu smanjiti uzimanjem oralnih kontraceptiva. Takvi lijekovi se najviše koriste za smanjenje boli kao simptoma. No, postoji mogućnost da kontraceptivi svojim mehanizmom djelovanja potiskuju bol i na taj način odgađaju pravu dijagnozu bolesti, te im se stoga samo naizgled pripisuje pozitivni zaštitni učinak (16).

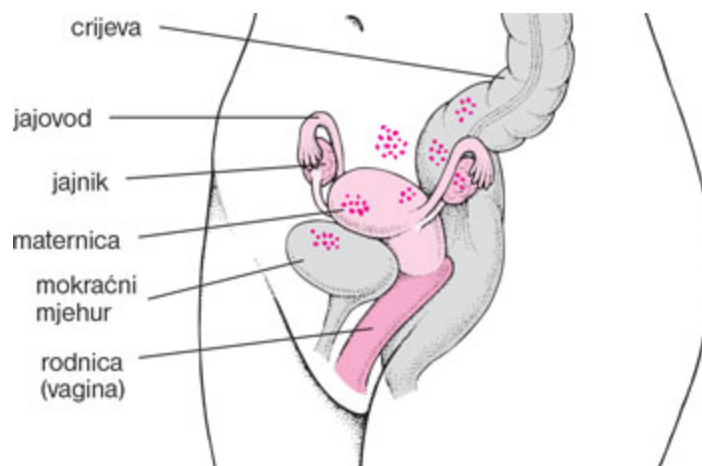
Kao kod mnogih kroničnih bolesti, pa tako i kod endometrioze prehrana je bitan rizični čimbenik, ali srećom, na njega možemo utjecati. Prema najnovijim istraživanjima povezanost prehrane i endometrioze temelji se na povoljnim učincima sastavnica iz hrane kojima se pripisuju protuupalna svojstva, međutim, mora se uzeti u obzir da su to rezultati studija na životinjama. Crveno meso je namirnica koja najviše podiže rizik, te je zamjena ribom, jajima ili školjkama povezana sa smanjenim rizikom. Pileće meso nije dobra alternativa crvenom mesu jer ispitivanja ukazuju da, iako manje, konzumacijom piletine ipak raste rizik od bolesti (17). Meta-analiza pokazuje da povećana konzumacija alkohola ili kofeina, suprotno očekivanjima, nije čimbenik koji povećava rizik (18, 19). Zanimljive rezultate donose studije koje ispituju utjecaj profesije i radnog vremena na rizik od bolesti. Utjecaj rada u noćnoj smjeni ispitivale su dvije studije slučajeva i kontrola (*case-control* studije). Žene koje su tijekom radnog vijeka više od polovice radnog vremena radile noćnu smjenu imale su povećane izgleda za endometriozu. Rad u noćnoj smjeni jedan je od značajnijih uzroka poremećaja cirkadijalnog ritma. Otkriveno je da noćni rad utječe na izlučivanje i metabolizam estrogena te je povezan s povećanim rizikom za nekoliko bolesti i stanja koja nastanu pod utjecajem tog hormona poput promjena u menstrualnom ciklusu, raka dojke ili bolesti srca. Druga je studija pokazala posebice povećan rizik kod određenih profesija, primjerice, domaćice zrakoplova, radnice na benzinskim postajama ili zdravstvene djelatnice. Obrazovanje i visina primanja nisu imali utjecaj na stupanj rizika u ispitivanim profesijama, ali se pokazalo da velika odgovornost, stres i rad u smjenama značajno utječu na zdravlje (20, 21).

Utjecaj okoliša u kojem živimo je sve važniji čimbenik koji utječe na razvoj endometrioze. Izloženost tvarima iz okoliša (poput zračenja ili dioksina) koje ometaju ravnotežu estrogena povezuje se s češćom pojavom endometrioze. Tvari koje ometaju proizvodnju i funkciju estrogena su i poliklorirani bifenili, pesticidi, herbicidi, deterdženti, plastika i sredstva za čišćenje kućanstva. Takve štetne tvari povećavaju neravnotežu u tijelu porastom broja

slobodnih radikala u cirkulaciji i dovode do oksidacijskog stresa. U današnje doba potrebno je puno truda da se ublaže ovakvi neželjeni utjecaji na našu prirodnu ravnotežu, a gotovo ih je nemoguće potpuno ukloniti (22).

#### **1.4. DIJAGNOSTIKA ENDOMETRIOZE**

Dijagnoza endometrioze najtočnije se postavlja kombinacijom nalaza iscrpne anamneze, fizikalnoga pregleda te laboratorijskih i vizualnih pretraga. Tri primarne vrste endometrioze su površinske peritonealne lezije, lezije jajnika (endometriomi) i duboko infiltrirajuća endometrioza (definira se kao čvor koji se proteže više od 5 mm ispod potrbušnice). Sve tri vrste lezija su povezane s kroničnom boli u zdjelici, pa liječnik lako može posumnjati na ovu bolest. Ultrazvuk zdjelice je vizualna tehnika koja zbog široke dostupnosti i mogućnosti detekcije i drugih uzroka boli u zdjelici treba biti prvi dijagnostički izbor, s tim da dijagnostička vrijednost ove tehnike ovisi o iskustvu i vještini liječnika koji ga izvodi. Transvaginalni ultrazvuk ima najveću osjetljivost i specifičnost u identificiranju endometrioma jajnika. Endometrioza se prvenstveno pojavljuje u zdjelici, odnosno na jajnicima, maternici i jajovodima, međutim, može biti i na slijepom crijevu, debelom crijevu, mokraćovodima, mokraćnom mjehuru ili rektovaginalnom septumu. Slika 2 prikazuje točkasto označene komadiće tkiva sluznice maternice na „pogrešnom“ mjestu.



Slika 2. Ektopično tkivo sluznice maternice kod endometrioze  
 (<httpwww.msd-prirucnici.placebo.hrmsd-za-pacijentespecificne-bolesti-zenaendometrioza>)

Lokacije izvan zdjelice su rijetke, ali mogu obuhvaćati gornji dio trbuha, dijafragmu, pluća, a zabilježen je čak slučaj endometrioze na kapku oka. Ugradnju tkiva endometrija na neuobičajena mjesta poput mozga, pluća, krvnih žila i crijeva objasnilo bi prenošenje takvog tkiva putem krvne ili limfne cirkulacije. Dijagnozu na tim neobičnim mjestima moguće je postaviti pomoću magnetske rezonancije, cistoskopije (za endometriozu mokraćnog mjehura), kompjuterizirane tomografije te rendgenske pretrage debelog crijeva klistirom obilježenim kontrastom (23).

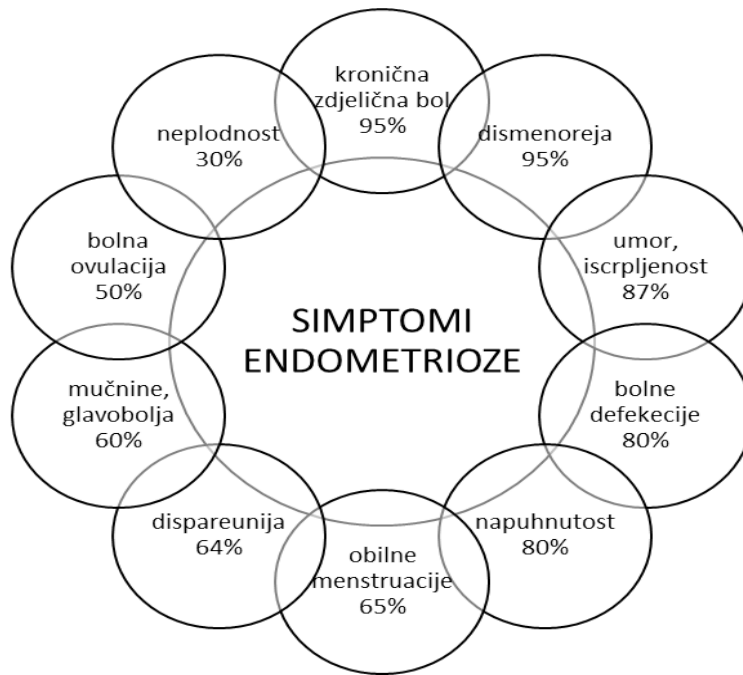
Zlatni standard za dijagnozu endometrioze je laparoskopija, vizualni pregled tijekom kojeg liječnik pregledava trbušnu šupljinu kroz fiberoptički instrument (laparoskop) koji se u trbuh uvlači kroz maleni kirurški rez malo ispod pupka. U nekim slučajevima, endometriozu se lako ne prepoznaje čak ni kad su promjene tkiva vidljive, a dijagnoza se može postaviti samo biopsijom (uzimanjem malog komada tkiva za mikroskopsku pretragu) koja se izvodi tijekom laparoskopije (24, 25). Često dolazi do značajnog kašnjenja u dijagnozi ove bolesti budući da ne postoji dobar neinvazivni test.

Određene pretrage krvi koje otkrivaju biljege za endometriozu poput CA125 (karcinom antigen 125 koji pripada skupini tumorskih biljega) i protutijela na tkivo sluznice maternice mogu pomoći liječniku u praćenju tijeka bolesti. Povišene razine ovih biljega pronalaze se i u nekim drugim bolestima, pa ne mogu biti isključivi za postavljanje dijagnoze. Nije pronađen nijedan serumski marker za dijagnozu endometrioze s odgovarajućom osjetljivošću i specifičnošću. Nove vrste ultrazvuka i magnetske rezonancije čine se obećavajuće, ali je premalo studija napravljeno za procjenu njihove dijagnostičke vrijednosti u otkrivanju endometrioze (26).

## **1.5. SIMPTOMI ENDOMETRIOZE**

Simptomatologija endometrioze najčešće ovisi o smještaju lezija. Lezije se lokaliziraju na jajniku te se bolest prezentira kao kontinuirana tupa bol koja se pojačava neposredno prije i tijekom menstrualnog krvarenja. Bol je najčešći simptom koji se javlja u 95 % slučajeva iako postoji i dio pacijentica s jako izraženom endometriozom koje nemaju nikakvih simptoma, pa se u njih bolest obično dijagnosticira u okviru redovitog ginekološkog pregleda ili obrade zbog neplodnosti. Drugi dio čine pacijentice u blažem stupnju bolesti s boli koja ih onemogućava u svakodnevnim aktivnostima. Bol se može osjećati u donjem dijelu trbuha i zdjelici, s desne ili lijeve strane trbuha. Moguće je i da žena osjeti bol sličnu menstrualnoj boli tek nakon što bolest traje nekoliko godina. Nepravilnosti menstruacije, poput točkastog krvarenja prije uobičajenog menstrualnog također su mogući znakovi bolesti. Lezije mogu biti i na crijevima pa uzrokuju bolove duboko u zdjelici, bolove tijekom odnosa (dispareunija), konstipaciju ili proljev, a ponekad i rektalno krvarenje. Napuhnutost, mučnine, glavobolja, umor i iscrpljenost dio su spektra simptoma koji obilježavaju ovu bolest. Neplodnost uzrokovana endometriozom zapravo je najozbiljniji simptom bolesti i ima dugoročne posljedice na fizičko i psihičko stanje pacijentice i njezine obitelji (27). Slika 3 donosi simptome endometrioze i podatke o njihovoj učestalosti.





Slika 3. Simptomi endometrioze i njihova učestalost (27)

### 1.5.1. Bol

Osim klasičnog prikaza, bol se može prikazati i kao dismenoreja (bolne menstruacije) i dispareunija (bol tijekom spolnog odnosa). Postoje razne teorije koje objašnjavaju mehanizam boli kod endometrioze poput upale ili promjene u procesuiranju boli u centralnom i perifernom živčanom sustavu (28). Na samu percepciju boli mogu utjecati različiti čimbenici kao što su psihološki i fizički stres, hormonalni status, zatim psihološko i emotivno stanje te umor koji nosi sama bolest. Bol može biti nociceptivna i neuropatska ili njihova kombinacija. Nociceptivna bol nastaje zbog trajno prisutnog bolnog podražaja koji se živcima prenosi do centra za bol u središnjem živčanom sustavu, dok neuropatska bol nastaje zbog oštećenja samog živčanog sustava. Brojni su periferni živčani mehanizmi kod boli povezane s endometriozom. Oni uzajamno djeluju između endometrijskih lezija i imunskog sustava, perifernih živčanih vlakana u lezijama i susjednog peritoneuma. Promjene u peritoneumu u žena s endometriozom mogu aktivirati ili senzibilizirati periferne nociceptore (29).

### 1.5.2. Neplodnost

U zdravom endometriju ravnoteža između estradiola i progesterona je u reguliranom odnosu te dovodi do menstrualnog ciklusa ili omogućuje uspješnu implantaciju embrija. Rast tkiva maternice izvan maternične šupljine uzrokuje prekid komunikacije među hormonima, što najčešće dovodi do dominacije estradiola i nemogućnosti tkiva endometrija da odgovori na izloženost progesteronu. Ovakva neravnoteža dovodi do jake upale i bolova u zdjelici te smanjuje sposobnost endometrija uspješno prihvatiti oplođenu jajnu stanicu. Za rani uspjeh trudnoće odgovorni su hormonski ovisni putovi koji se odvijaju preko nuklearnih receptora za progesteron i estradiol. Estradiol potiče staničnu proliferaciju kako bi endometrij zadebljao, a nakon toga progesteron inhibira proliferaciju i omogućuje stanicama započeti svoje promjene tijekom sekretorne faze. Do poteškoća dolazi kad se naruši uravnoteženi mehanizam suradnje ova dva hormona (30). Povezanost endometrioze i neplodnosti pokazuje Tablica 1.

Tablica 1. Moguće biološko objašnjenje uzročne veze između endometrioze i neplodnosti (31).

<b>Lokalizacija promjena</b>	<b>Promjene</b>
Zdjelična šupljina	Posljedice kronične upale utječu na kvalitetu jajnih stanica, stvaranje folikula i funkciju žutog tijela. Promjene u peritonealnoj tekućini utječu na interakciju spermija i jajne stanice. Zbog mehaničkih oštećenja promijenjena je anatomija i prekinut normalan kontakt jajnika s jajovodom.
Jajnici	Zdravo tkivo jajnika smanjuje se zbog nastanka lezija ili nakon operacije njihovog uklanjanja, što dovodi do smanjenog odgovora jajnika pri proizvodnji jajnih stanica. Kronične upalne promjene u zdjelici i mehanička oštećenja dovode do disfunkcije jajnika.
Maternica	Prihvatljivost endometrija za oplođenu jajnu stanicu mijenja se zbog kroničnih upalnih promjena. Povećana koncentracija estradiola i otpornost na progesteron. Nepravilna peristaltika miometrija utječe na transport.

### **1.5.3. Umor, iscrpljenost i glavobolja**

Važno je naglasiti da umor kod endometrioze nije jednak svima poznatom osjećaju koji nastane zbog manjka sna ili nakon napornog dana na poslu. Naprotiv, pacijentice s endometriozom opisuju umor koji ih obuzima kao osjećaj stalne iscrpljenosti. Glavni razlog zbog kojeg endometriozna uzrokuje takav umor jer nastojanje organizma da eliminiira bolesno tkivo koje se nalazi na „krivom“ mjestu. Naš imunosni sustav pokušava pobijediti bolest pa se u tkivu zahvaćenom endometriozom oslobađaju citokini kao medijatori upalne bolesti. Iscrpljenost negativno utječe na svakodnevni život, od kućnih poslova, sportskih aktivnosti i druženja, sve do smanjenja produktivnosti i izostajanja s posla. Istraživanje iz 2018. godine pokazalo je da su adolescentice s endometriozom sklonije migrenama više nego njihove zdrave vršnjakinje. Ustanovljena je linearna veza između jačine bolova uzrokovanih migrenom i vjerojatnosti da ženska osoba ima endometriozu, što upućuje na pojačanu osjetljivost na bol (32).

## **1.6. METODE LIJEČENJA ENDOMETRIOZE**

Endometrioza je bolest koja se još uvijek ne može potpuno izliječiti. Terapija je učinkovitija ako se primjeni u ranim stadijima bolesti pa je zbog toga jako važno prepoznati simptome te pacijentice na vrijeme uputiti na specijalistički pregled. Glavni ciljevi terapije su smanjiti bol i ostale simptome, spriječiti napredovanje bolesti, smanjiti već postojeća žarišta, očuvati plodnost i poboljšati kvalitetu života. Terapija najčešće uključuje uporabu lijekova, kirurško liječenje ili njihovu kombinaciju. Kako ne postoje točno određena pravila kada se i kod koje pacijentice primjenjuje određena vrsta terapije, svakoj od njih treba pristupiti individualno i ovisno o dobi, željama za rađanjem, stupnju bolesti i drugim čimbenicima (33).

### **1.6.1. Lijekovi**

Dvije su osnovne linije izbora lijekova koje uključuju analgetsku i hormonsku terapiju (33). Prva linija za najčešći simptom endometrioze su lijekovi protiv bolova, odnosno nesteroidni protuupalni lijekovi koji djeluju na osnovi inhibicije prostaglandina. Najčešće korišteni lijekovi su acetilsalicilna kiselina i ibuprofen. Uzimanjem ovih lijekova pacijentice mogu značajno umanjiti bol i olakšati simptome. Nesteroidni protuupalni lijekovi imaju i neželjene učinke na središnji živčani, kardiovaskularni, probavni sustav, krv i krvotvorne organe, jetru, dišni sustav, bubrege i kožu, pa je važno naglasiti da ih se uzima umjereno. Postoji nekoliko opcija izbora hormonske terapije, ali stručnjaci se još nisu usuglasili koja je najučinkovitija opcija da bi se recidiv bolesti dugotrajno prevenirao. Glavni mehanizam djelovanja je blokiranje izlučivanja estrogena i aktivnosti estrogenskih receptora te aktivacija receptora progesterona. Ograničenje ovog načina liječenja su neželjeni učinci poput dugotrajnog hipoestrogenizma i visokog postotka recidiva bolesti nakon prestanka korištenja (33).

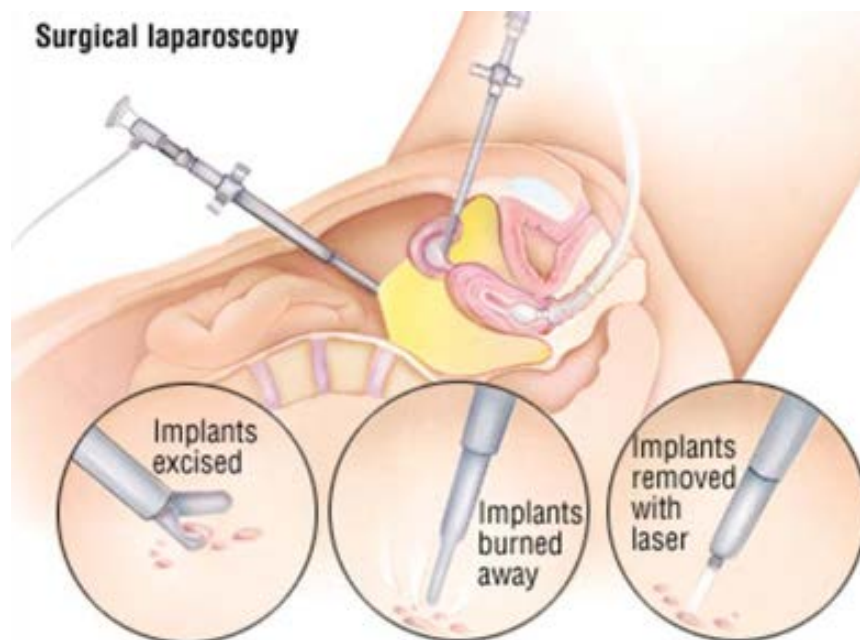
U tablici 2 su navedeni hormonski lijekovi kojima se mogu ublažiti simptomi endometrioze. Svaka od navedenih skupina lijekova ima svojih prednosti, ali nažalost i nedostataka, kao što su kratkotrajni učinak na simptome bolesti, nuspojave i visoki troškovi liječenja. Endometriozna je kronična bolest pa idealni lijek ne bi trebao biti kontraceptiv, ne bi trebao ometati prirodnu ovulaciju, a trebao bi potisnuti rast lezija koje već postoje te spriječiti razvoj novih i biti učinkovit kod svih tipova endometrioze (33).

Tablica 2. Hormonski lijekovi za ublažavanje simptoma endometrioze (33)

<b>Skupina lijekova</b>	<b>Mehanizam djelovanja</b>	<b>Učinak</b>
Hormonski kontraceptivi (oralni, transdermalni, vaginalni)	decidualizacija i atrofija endometrijskog tkiva	olakšanje simptoma
Gestageni (progesteron / progestini)	decidualizacija endometrija, inhibicija mitoze potaknute estrogenom, mijenjanje estrogenskih receptora	olakšanje simptoma i ublažavanje bolesti
Agonisti gonadotropin oslobađajućeg hormona	„down-regulacija“ osi hipofiza-jajnici i hipoestrogenizam	olakšanje simptoma i ublažavanje bolesti
Antagonisti gonadotropin oslobađajućeg hormona	moduliranje osi hipotalamus-hipofiza-jajnik kompetitivnim vezanjem na receptore GnRH u hipofizi	ublažavanje bolesti
Inhibitori aromataze	inhibicija sinteze estrogena	olakšanje simptoma
Selektivni modulatori estrogenskih receptora	vezanje na estrogenske receptore, smanjenje rasta lezija	olakšanje simptoma
Selektivni modulatori progesteronskih receptora	potiskivanje rasta ektopičnog endometrijskog tkiva ovisnog o estrogenu	olakšanje simptoma

### 1.6.2. Kirurško liječenje

Liječnici se odlučuju na kirurško liječenje u slučaju pacijentica u kojih su lezije velike i proširene, a simptomi poput bolova u zdjelici, neplodnosti i dispareunije izraženiji (33). Laparoskopija je endoskopska operacija koja se obavlja kroz male otvore na trbuhu veličine 5-10 mm i pod općom anestezijom. Najprije se kroz rez uvede posebna igla kroz koju se trbuh napuni ugljičnim dioksidom da se osigura bolji pregled zdjeličnih organa. Kroz taj isti rez u nastavku se uvodi posebna vrsta teleskopa (laparoskop) s kamerom. Drugi instrumenti se uvode u zdjeličnu šupljinu kroz male rezove na koži na drugim mjestima na trbuhu. Laparoskopski se odstranjuje endometriotično tkivo i vidljive priraslice te se nastoji uz maksimalno moguće očuvanje cjelovitosti jajnika i jajovoda što više očuvati ženina sposobnost rađanja. Slika 4 prikazuje metode uklanjanja endometriotičnih lezija.



Slika 4. Kirurška laparoskopija

(<https://www.eshre.eu>)

### **1.6.3. Kombinacija lijekova i kirurškog liječenja**

Jedna od strategija liječenja je kombiniranje kirurškog liječenja i lijekova radi smanjenja recidiva endometrioze. Iako se čini da je ovakva kombinacija korisna, nije točno određen trenutak kad bi se, u odnosu na kirurški zahvat, lijekovi trebali primjenjivati za postizanje najučinkovitijeg odgovora na liječenje. Kanadski znanstvenici su 2020. napravili meta-analizu 26 randomiziranih kliničkih studija u koje je bilo uključeno 3457 žena s dijagnozom endometrioze. Tražili su odgovor na pitanje trebaju li se lijekovi s djelovanjem na hormonski sustav davati prije ili nakon kirurškog zahvata, ili i prije i nakon. Iz analiziranih podataka nisu mogli izvući čvrsti zaključak jer je kvaliteta dokaza bila umjerena. Ipak, zaključuju da uzimanje lijekova nakon operacije može biti učinkovitije od placeba (34).

Kirurško uklanjanje lezija uobičajeno je kod simptomatske endometrioze kada pacijentice ne reagiraju na medicinsku terapiju, međutim, recidivi nakon operacije predstavljaju ozbiljan izazov. Ponavljajuće lezije mogu se pojaviti iz minimalnih ostataka odstranjenih lezija ili nastati kao potpuno novo tkivo. Ponavljanje operacije povećava rizik od preranog zatajenja jajnika ili ozljede organa, a učinkovitost hormonske terapije u sprečavanju recidiva još nije potvrđena (35). Kirurško uklanjanje maternice i jajnika provodi se u slučajevima napredovanja bolesti i pogoršanja simptoma, kad nema učinka lijekova te ako žena ne želi više rađati. Liječnik bi trebao izabrati najbolju opciju liječenja prema individualnom stanju svake pacijentice. Prije odabira treba razmotriti kliničku manifestaciju bolesti, stupanj bolesti, proširenost lezija te njihovu lokaciju u tijelu, kako pacijentica podnosi i odgovara na lijekove, dob pacijentice i njezinu odluku po pitanju ostvarivanja trudnoće (36).

#### 1.6.4. Nefarmakološke mjere: uloga prehrane u ublažavanju simptoma endometrioze

Prilagodba prehrane kod endometrioze temelji se na teoriji da je hormon estrogen uključen u razvoj bolesti. Preporuča se konzumacija namirnica koje snižavaju razine estrogena jer bi tako moglo doći do olakšavanja simptoma. Prehrana prilagođena stanju može pomoći u ublažavanju bolova, grčeva, upale i nadutosti te djelovati detoksikacijski i na smanjenje tjelesne mase. Nadalje, pravilna prehrana povećava energiju, povoljno djeluje na rad imunosnog sustava te poboljšava sveukupno zdravlje. Eikozanoidi su tvari koje obuhvaćaju prostaglandine, tromboksane i prostacikline, a dio su gotovo svih staničnih procesa koji se odvijaju u tijelu. Višak prostaglandina  $F_2\alpha$  i manjak prostaglandina E prirodna su posljedica pojačane izloženosti stresu i neuravnotežene prehrane, a ujedno i biokemijska osnova stanja odgovorna za nastanak brojnih ginekoloških tegoba. Promjene u načinu prehrane mogu smanjiti preveliku proizvodnju prostaglandina i uspostaviti ravnotežu. Prehrana koja uravnotežuje metabolizam eikozanoida podrazumijeva:

1. smanjenje unosa rafiniranih ugljikohidrata (keksi, kolači i drugi slatkiši, bijeli šećer, kruh i peciva od bijelog brašna);
2. ograničenje ili potpun prestanak konzumacije mesa i jaja (crveno meso i žumance jajeta bogati su izvori arahidonske kiseline koja je polazna tvar u nastanku prostaglandina  $F_2\alpha$ );
3. izbjegavanje izvora *trans* masnih kiselina, hidrogeniziranog biljnog ulja kao što su margarin i biljna mast (povećavaju proizvodnju prostaglandina  $F_2\alpha$ );
4. nadopunu prehrane esencijalnim masnim kiselinama (omega-3 masne kiseline).

U prehrani bi trebalo osigurati što više ribe (losos, tuna ili skuša) i lanenog ulja kao bogatih izvora omega-3 masnih kiselina, zelene namirnice te žitarice, mahunarke, zobeno brašno i zeleno povrće kuhano na pari (37). Preporuča se izbjegavati oštre začine, prženu i masnu hranu, šećer, sol, alkohol, češnjak i luk, a poželjno je izbacivanje namirnica koje izazivaju alergije jer hrana na koju smo alergični povećava proizvodnju prostaglandina.



U žena alergičnih na kvasac pojačanu proizvodnju prostaglandina mogu izazvati pečena hrana, kruh, fina peciva i industrijski voćni sokovi. Potrebno je također smanjiti konzumaciju mliječnih proizvoda. Točan razlog štetnog djelovanja mliječnih proizvoda na nastanak simptoma nije poznat, ali se pretpostavlja da uporaba hormona rasta za goveda te antibiotika ili pesticida u prehrani krava može interferirati s metabolizmom ženskih spolnih hormona u crijevima (utjecaj na crijevu floru i enterohepatičku recirkulaciju estrogena). Zamjena za mlijeko i mliječne proizvode mogu biti različita biljna mlijeka (rižino, bademovo, kokosovo i dr.).

Prehrana bez glutena nova je strategija kako se uspješnije „obračunati“ s bolnim simptomima endometrioze. Smatra se da gluten može pojačati proizvodnju proupalnih citokina pogoršavajući patološku pozadinu bolesti, a izaziva propusnost crijeva i dovodi do autoimunih bolesti. U Italiji je 2012. provedena studija na 207 pacijentica koje su jačinu boli za simptome poput kronične zdjelice boli, dismenoreje i dispareunije ocijenile pomoću vizualno-analogne ljestvice (engl. *Visual Analogue Scale*, VAS) prije početka ispitivanja. Dvanaest mjeseci provodile su prehranu bez glutena i nakon tog vremena opet ocjenjivale intenzitet bolova. Čak je 75 % pacijentica zabilježilo statistički značajno smanjenje bolova, a niti jedna nije prijavila pogoršanje. Za sve pacijentice primijećeni su statistički značajno bolji rezultati u domenama tjelesnog i socijalnog funkcioniranja, vitalnosti te opće percepcije fizičkog i mentalnog zdravlja (38).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog specijalističkog rada je dati sveobuhvatan pregled znanstvenih spoznaja o mehanizmima djelovanja i učincima bioaktivnih biljnih sastavnica i mikronutrijenata na ublažavanje simptoma endometrioze kako bi se prema znanstveno utemeljenim dokazima mogli donijeti relevantni zaključci o njihovom potencijalu primjene. Znanstveno utemeljene informacije dostupne ljekarnicima značajno doprinose njihovom svakodnevnom radu s pacijentima. Stoga se očekuje da će rezultati ovog rada naći primjenu u savjetovanju pacijentica koje pate od teških simptoma endometrioze.

### **3. MATERIJALI I METODE**

Istraživanje u okviru specijalističkog rada je teorijskog karaktera i uključuje pregled dostupne stručne i znanstvene literature o predloženoj temi. Pretražene su dostupne elektronske baze podataka (PubMed, Scopus, ScienceDirect, Cochrane). Korištene su ključne riječi i njihove kombinacije: „endometrioza“, „simptomi“, „liječenje“, „bioaktivna biljna sastavnica“, „mikronutrijent“, „antioksidansi“, „kineska medicina“, „prehrana“, „kombinirani pripravci“. Prikupljeni podaci obuhvaćaju pretklinička i klinička ispitivanja koja su detaljno proučena i sistematično prikazana.

## 4. REZULTATI - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

### 4.1. BIOAKTIVNE BILJNE SASTAVNICE

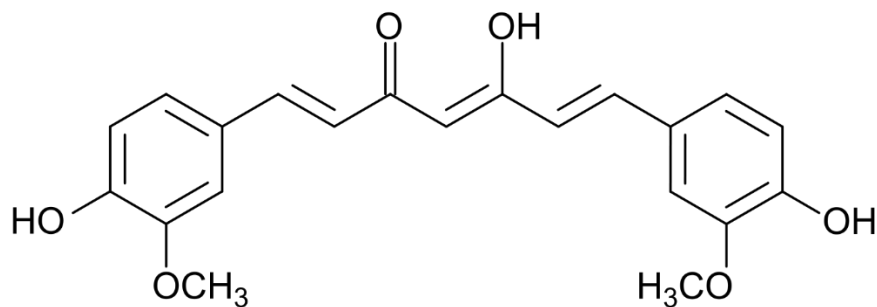
#### 4.1.1. Kurkumin

Rod *Curcuma* (L.) iz porodice Zingiberaceae sadrži više od 100 biljnih vrsta, a najpoznatija je kurkuma - *Curcuma longa* (L.). Kurkuma potječe iz južne Kine, a danas se uzgaja u Indiji, zapadnom Pakistanu, Indoneziji i u nekim afričkim zemljama te na otocima Javi i Haitiju. U tradicionalnoj Ayurvedskoj medicini dobro je poznata u liječenju mnogih bolesti vezanih za respiratorni sustav (astma, alergije, bronhijalna hiperaktivnost, kašalj, sinusitis), bolesti jetre, anoreksiju i reumatizam. U tradicionalnoj kineskoj medicini kurkuma se upotrebljava za liječenje amenoreje i stanja koja izazivaju bol u abdomenu i bubrezima. Kurkuminoidi su važne fenolne komponente odgovorne za žutu boju kurkuminog podanka (slika 5), a glavni kurkuminoid je kurkumin (slika 6). Kurkumin ima snažno protuupalno djelovanje, a mnoge *in vitro* i životinjske studije potvrđuju njegovo antioksidacijsko, hipoglikemijsko, antimikrobno, antiangiogenetsko djelovanje, a djeluje i kao regulator hormona. Istražuje se i njegovo protutumorsko djelovanje (39).



Slika 5. Kurkumin podanak

(<https://www.krenizdravo.hr/prehrana/zacini/kurkuma-zacin-i-biljni-lijek>)



Slika 6. Kurkumin

([https://hr.wikipedia.org/wiki/Datoteka:Curcumin\\_structure.svg](https://hr.wikipedia.org/wiki/Datoteka:Curcumin_structure.svg))

### *Djelovanje kurkumina na staničnu proliferaciju*

Prema podacima iz literature stanice endometrija zdravih i bolesnih žena se razlikuju. Endometriozna podrazumijeva proliferaciju stanica endometrija i jačanje sposobnosti da se usade na ektopičnim lokacijama u tijelu. Zbog nepovoljnih vanjskih ili unutarnjih čimbenika smanjena je i osjetljivost endometrijskih stanica na apoptozu, što dodatno pogoduje njihovom naseljavanju na mjestima izvan maternice. Pretpostavka je da hormon estradiol ima ključnu ulogu u nastajanju i trajanju bolesti. U usporedbi sa zdravim ženama, u menstrualnoj krvi žena s endometriozom nađene su više razine estradiola, zbog čega možemo zaključiti da se taj hormon stvara i lokalno u endometriju. Zabilježeni su i slučajevi uspješnog liječenja endometrioze primjenom inhibitora aromataze koji svojim djelovanjem smanjuju stvaranje estradiola u perifernim tkivima. Možemo zaključiti da estradiol ima ključnu ulogu u ektopičnom endometriju i da ga dominantno izlučuju epitelne stanice takvog tkiva.

Može li kurkumin svojim djelovanjem smanjiti vrijednosti estradiola i tako zaustaviti proliferaciju stanica endometrija? U *in vitro* studiji provedenoj u Kini 2013. godine, uzet je uzorak stanica endometrija u osam žena s dijagnozom endometrioze u dobi 24-45 godina. Šest

mjeseci prije početka ispitivanja pacijentice nisu imale nikakve druge bolesti niti su uzimale hormonske pripravke.

Uzorak stanica zdravog endometrija uzet je i od devet žena dobi 29-43 godine koje nisu imale endometrioze niti bile na hormonskoj terapiji. Kurkumin (čistoće 99%) je otopljen, steriliziran te razrijeđen DMEM otopinom (engl. *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) na koncentracije 10  $\mu\text{mol/L}$ , 30  $\mu\text{mol/L}$  ili 50  $\mu\text{mol/L}$ . Iz uzoraka su izolirane epitelne i stromalne stanice tkiva bolesnog endometrija te epitelne i stromalne stanice tkiva zdravog endometrija, a koncentracija estradiola u uzorcima izmjerena je imunokemijskom metodom elektrokemiluminiscencije. Rezultati su pokazali da je vrijednost estradiola u epitelnim stanicama bolesnog tkiva  $12,90 \pm 0,6 \text{ pg/mL}$ , čak viša od vrijednosti u stromalnim stanicama bolesnog tkiva ( $9,34 \pm 1,37 \text{ pg/ml}$ ). Vrijednosti estradiola u stanicama zdravog tkiva su bile izrazito niske, blizu minimalne vrijednosti koja se mogla detektirati. Stanice su zatim tretirane priređenim otopinama kurkumina, a supernatant je sakupljan u pet vremenskih točaka, na početku te nakon 24, 48, 72 i 96 sati. Koncentracija estradiola izmjerena je imunoenzijskim testom visoke osjetljivosti ELISA (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). U usporedbi s kontrolom, razina estradiola bila je statistički značajno niža nakon dodatka kurkumina, posebice kod primijenjenih koncentracija 30  $\mu\text{mol/L}$  i 50  $\mu\text{mol/L}$ . S ciljem da se izmjeri učinak kurkumina na proliferaciju stanice su kultivirane u mediju s trima dozama kurkumina (10, 30 i 50  $\mu\text{mol/L}$ ). Supernatant je skupljan u istih pet vremenskih točaka te je izmjerena apsorbancija imunoenzijskim testom visoke osjetljivosti. U odnosu na kontrolu, sve su primijenjene koncentracije kurkumina uzrokovale smanjenje broja endometrijskih stromalnih stanica i usporile njihov rast. Kurkumin je smanjenjem vrijednosti estradiola pokazao sposobnost inhibiranja proliferacije stanica endometrija. Stoga, ovakav mehanizam djelovanja kurkumina nudi nove mogućnosti ublažavanja endometrioze (40).

### *Utjecaj kurkumina na angiogenezu i apoptozu stanica*

Za opstanak endometriotičnih lezija bitna je angiogeneza i opskrba tkiva svježom krvi. U peritonealnoj tekućini žena s endometriozom angiogeneza se događa češće nego u zdravih. Utvrđeno je također da peritonealna tekućina bolesnih žena sadrži povišenu koncentraciju vaskularnog endotelnog čimbenika rasta koja korelira sa stupnjem bolesti. Taj je protein odgovoran za rast novih krvnih žila i najvažniji čimbenik za razvoj angiogeneze u endometriozu. Godine 2017. skupina kineskih znanstvenika spomenutih u prethodnoj studiji ispitala je mehanizam djelovanja kurkumina u uvjetima *in vitro* i njegov utjecaj na VEGF. Kurkumin visoke čistoće otopili su u DMEM mediju, sterilizirali te prije uporabe priredili koncentracije 20 i 50  $\mu\text{mol/L}$ . Jedan uzorak su činile ektopične stanice endometrija 14 pacijentica s endometriozom u dobi 24-45 godina, a za drugi uzorak uzete su stanice iz eutopičnog tkiva stromalnih stanica endometrija devet zdravih pacijentica u dobi 29-43 godine. Stanicama su dodane priređene koncentracije kurkumina i kontrolna otopina koja nije sadržavala kurkumin te su inkubirane 72 sata na sobnoj temperaturi. Metoda otkrivanja ekspresije VEGF-a bila je imunocitokemijsko bojanje stanica koje je pokazalo da kurkumin u koncentracijama 20 i 50  $\mu\text{mol/L}$  statistički značajno smanjuje ekspresiju VEGF-a u obje vrste stanica u usporedbi s kontrolom. Nadalje, 50  $\mu\text{mol/L}$  kurkumina dodano je u obje vrste stanica koje su zatim inkubirane 48 sati na temperaturi 37 °C. Kvalifikacija nastale apoptoze stanica određena je Annexin V-FITC testom. Utvrđeno je 4,7 % rane apoptoze u ektopičnim stanicama i 28,4 % kasne apoptoze u ektopičnim stanicama endometrija uzrokovane kurkuminom, dok je u zdravim stanicama endometrija došlo do 2,8 % rane i 24,4 % kasne apoptoze. Ovakvi podaci ukazuju da u *in vitro* uvjetima kurkumin može smanjiti preživljenje ektopičnih i eutopičnih stanica endometrija. Ustanovljeno je da kurkumin može utjecati na regulaciju VEGF-a i potaknuti apoptozu u uvjetima *in vitro*, međutim, potrebna su dodatna ispitivanja kako bi se istražio pravi potencijal takvog djelovanja u žena (41).

### *Protuupalno djelovanje kurkumina*

Upalni procesi imaju ključnu ulogu u patogenezi endometrioze i vrlo su karakteristični. U žena kojima je dijagnosticirana ova bolest utvrđene su promjene stanica imunskog sustava, a peritonealna tekućina pokazala je povišen broj aktivnih makrofaga i proupalnih citokina. Kim i suradnici (42) izvijestili su da kurkumin inhibira aktivaciju transkripcijskog čimbenika NF- $\kappa$ B koji ima glavnu ulogu u stvaranju upale u humanim stromalnim stanicama endometriotičnog tkiva.

### *Djelovanje kurkumina na oksidacijski stres*

Još jedan bitan čimbenik potencijalno uključen u patogenezu bolesti je oksidacijski stres. Ravnotežu između antioksidansa i kisikovih slobodnih radikala mogu narušiti unutarnji i okolišni čimbenici. Povišene koncentracije kisikovih slobodnih radikala pridonose razvoju bolesti, a pojačani oksidacijski stres može biti povezan sa simptomima endometrioze poput neplodnosti. Swarnakar i Paul (43) pretpostavili su da preventivna primjena kurkumina u životinjskom modelu sprječava lipidnu peroksidaciju i oksidaciju proteina, a ispitali su i njegovo protuupalno djelovanje. Matriksne metaloproteinaze (MMP), posebice MMP-2 i MMP-9, jedini su enzimi sposobni razgraditi fibrilarni kolagen i ostale proteine izvanstaničnog matriksa. Razgradnja izvanstaničnog matriksa je prvi korak koji omogućuje usađivanje i rast ektopičkog tkiva budući da se u njemu potiče stvaranje nove mreže krvnih žila. Pretpostavka je bila da davanje kurkumina životinjama prije ili nakon indukcije lezija inhibira učinak i aktivnost oblika MMP-9. Endometrioza se spontano pojavljuje samo u primata pa je stoga za provođenje studija na životinjskim modelima potrebno kirurški inducirati endometriotične lezije. U prve tri skupine po pet miševa lezije su inducirane. Jedna skupina životinja je žrtvovana na sedmi, druga na petnaesti, a treća na dvadesetprvi dan od indukcije.



Kontrolnu skupinu od pet jedinki sačinjavali su miševi bez endometrioze koji su žrtvovani na sam dan indukcije. U druge tri skupine miševima je aplicirano 16, 32 i 48 mg/kg kurkumina (ne navodi se u kojem obliku) 30 minuta prije nego im je inducirano endometriotično tkivo. U sljedeća tri dana te su pokusne životinje dobivale još jednu dnevnu dozu kurkumina. Metoda određivanja aktivnosti MMP-9 u uzorcima bila je želatinozna zimografija. Na uzorcima tkiva miševa iz prve tri skupine koje nisu primile kurkumin došlo je do povećanja veličine lezija rastom trajanja bolesti. Rezultati su pokazali snažnu vezu između veličine lezija i aktivnosti MMP-9. Nakon 21 dan od indukcije endometrioze, razina izlučivanja enzima se povećala devet puta, a sinteza 14 puta. Druge tri skupine miševa pokazale su kako je preventivno davanje doze kurkumina od 48 mg/kg statistički značajno smanjilo veličinu lezija, ukazujući na potencijalna svojstva kurkumina u borbi protiv bolesti. Djelovanje kurkumina na aktivnost MMP-9 procjenjivala se u tkivima miševa iz kontrolne skupine, skupine kojoj je inducirana endometriozna bez davanja kurkumina i skupine koja je kurkumin dobivala preventivno u dozama 16, 32 i 48 mg/kg. U tkivu miševa koji su prethodno bili tretirani sa 48 mg/kg kurkumina ustanovljen je pad aktivnosti MMP-9 za 80 % te je zaključeno da preventivna uloga kurkumina ovisi o dozi.

Učinak kurkumina ispitan je i na miševima kojima je prvotno inducirana endometriozna, a zatim apliciran kurkumin. Petnaesti dan nakon indukcije, skupina miševa (n = 5) dobivala je 48 mg/kg kurkumina intraperitonealno, a druga skupina (n = 5) nosač, jednom dnevno tijekom deset dana. Isti postupak primijenjen je na nove dvije skupine miševa u trajanju od 20 dana. Otkriveno je da ova terapijska doza značajno snižava aktivnost MMP-9, 45 % nakon deset te 85 % nakon 20 dana. Izmjeren je i utjecaj kurkumina na lipidnu peroksidaciju u 14 uzorka tkiva miševa žrtvovanih na 15. dan od indukcije. Kurkumin je značajno smanjio lipidnu peroksidaciju u lezijama, a vrijednost je bila dvostruko snažnija u endometriotičnom tkivu u usporedbi s kontrolnim.

Upalni signali koje uzrokuje endometrioza rezultiraju pretjeranim oksidacijskim stresom u tkivima. Kako se kurkumin već dokazano kao dobar antioksidans, preventivnom primjenom štiti proteine i lipide od oksidacije. Ova studija je pokazala mnoge pozitivne učinke kurkumina i može biti poticaj za veće kliničke studije u budućnosti (43).

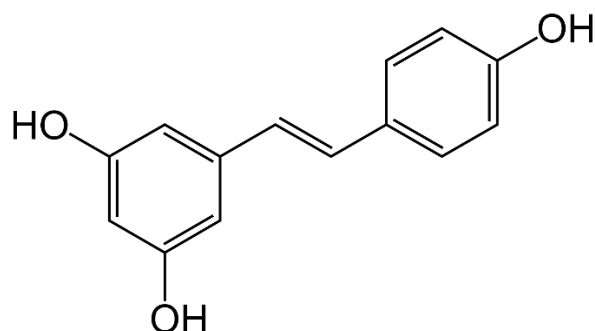
#### **4.1.2. Resveratrol**

Godine 1940. resveratrol je prvi put izoliran iz korijena otrovne bijele čemerike, a 1963. identificiran u korijenu japanskog dvornika koji se od davnina koristi u tradicionalnoj japanskoj i kineskoj medicini. Resveratrol je još pronađen i u 70ak drugih biljnih vrsta, a njegovi najpoznatiji izvori su crno grožđe (slika 7), plodovi borovnice i brusnice te kikiriki. Biljke proizvode resveratrol kao odgovor na ozljedu, ozon, štetne UV-zrake ili gljivice. Pripada fenolnim spojevima iz skupine stilbena (slika 8).



Slika 7. Prirodni izvor resveratrola

(<https://www.nutraingredients.com/Article/2015/01/20/Wine-industry-by-products-create-stable-delivery-system-for-resveratrol>)



Slika 8. Resveratrol

(<https://en.wikipedia.org/wiki/Resveratrol>)

Resveratrol je možda najdetaljnije proučavan stilben i tijekom mnogih pretkliničkih studija pokazana je njegova učinkovitost pri djelovanju na simptome endometrioze. Nažalost, skroman je broj kliničkih studija koje bi pokazivale pravi učinak na ljudima. Među pretkliničkim istraživanjima ističe se *in vivo* ispitivanje utjecaja resveratrola na eksperimentalno inducirane endometriotične lezije i upalne parametre, provedeno 2013. godine u Turskoj. Ergenoğlu i suradnici (44) kirurški su inducirali endometriozu u 12 štakora. Nakon četiri tjedna, izveli su laparotomiju tijekom koje su vizualizirali lezije i izračunali njihov obujam. Štakori su zatim podijeljeni u kontrolnu (skupina 1) i ispitivanu skupinu koja je tretirana resveratrolom (skupina 2). Nakon tri dana odmora, u sljedećih 14 dana skupina 1 dobivala je intramuskularno fiziološku otopinu (1 mL/kg/dan), a skupina 2 resveratrol otopljen u fiziološkoj otopini (10 mg/kg/dan). Na kraju ispitivanja kirurškim zahvatom ponovno su izmjerene dimenzije lezija i izračunat je njihov obujam. Uzeti su uzorci peritonealne tekućine i krvi štakora obje skupine. Rezultati makroskopske analize su pokazali da prije početka eksperimenta nema statistički značajne razlike u obujmu lezija između skupine 1 ( $27,83 \pm 7,98 \text{ mm}^3$ ) i skupine 2 ( $26,66 \pm 8,61 \text{ mm}^3$ ). Slično tim rezultatima, nije uočena značajna razlika u smanjenju obujma lezija kod štakora u kontrolnoj skupini nakon aplikacije fiziološke otopine, dok je u skupini koja je primala resveratrol zabilježeno statistički značajno smanjenje obujma na  $5,10 \pm 3,45 \text{ mm}^3$ .

Histološka procjena dijelova tkiva kontrolne skupine pokazala je kako su difuzno proširene lezije bile dobro integrirane u epitelno tkivo, te da se oko njih jasno moglo vidjeti glatko mišićno tkivo i adipozne stanice, uz izraženu prokrvljenost. No, nakon primjene resveratrola, u tkivu je uočen smanjen broj epitelnih stanica oko lezija kao i smanjen stupanj prokrvljenosti tih lezija.

Teorije retrogradne menstruacije i teorija metaplazije nisu dovoljne za potpuno objašnjenje nastanka endometrioze, pa znanstvenici pokušavaju pronaći dodatno objašnjenje proučavajući djelovanje imunskog sustava. Najprihvaćenija hipoteza uključuje iznadprosječnu aktivaciju peritonealnih makrofaga koja je povezana s otpuštanjem citokina (TNF- $\alpha$ , VEGF i MCP-1), smanjenu citotoksičnost perifernih i peritonealnih NK stanica koje bi inače djelovale protiv ektopičnog endometrija. Stoga je u ovoj studiji provedenoj na životinjama (44) ispitan i mehanizam protuupalnog djelovanja resveratrola, odnosno njegovo inhibicijsko djelovanje na citokine kao što su čimbenik tumorske nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ), vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF) i protein koji privlači monocite (MCP-1). Imunoenzimskim testom visoke osjetljivosti izmjerene su vrijednosti upalnih parametara u peritonealnoj tekućini i krvi štakora. Značajno su se razlikovale vrijednosti VEGF-a iz peritonealnih tekućina pokusnih životinja unutar kontrolne ( $52,65 \pm 7,07$  pg/mL) i resveratrol skupine ( $23,78 \pm 4,98$  pg/mL) kao i vrijednosti određene u plazmi (kontrola:  $173,01 \pm 18,26$  pg/mL; resveratrol:  $76,96 \pm 14,49$  pg/mL). Razine MCP-1 su se značajno razlikovale samo u peritonealnoj tekućini (kontrola:  $15,94 \pm 2,28$  pg/mL; resveratrol:  $8,24 \pm 1,27$  pg/mL). U izmjerenim vrijednostima TNF- $\alpha$  nije bilo statistički značajne razlike među skupinama ( $p > 0,05$ ). Rezultati su pokazali da resveratrol smanjuje obujam endometrijskih lezija i upalni odgovor u peritonealnoj okolini te time usporava razvoj bolesti i simptoma.

Kliničke studije o učinku resveratrola na simptome endometriozе donose nam kontradiktorne podatke. Pregledni rad iz 2008. predstavlja nam resveratrol kao modulator brojnih signalnih putova i molekula (45). Najbitniji mehanizam djelovanja resveratrola kod endometriozе svakako je inhibicija aktivnosti aromataze na enzimskom nivou i razini transkripcije gena. Prisutnost enzima aromataze u endometriotičnom tkivu ukazuje na težinu i aktivnost bolesti. Ekspresija tog enzima ključna je za određivanje kliničkog tijeka bolesti i prate je kronični bolovi. To nas dalje vodi do zaključka da lijekovi koji potiskuju ekspresiju aromataze mogu imati važnu ulogu u ublažavanju simptoma bolesti. Kod agresivnijih oblika endometriozе ispitivane su kombinacije inhibitora aromataze s oralnim kontraceptivima (46). Takva kombinacija pokazala se učinkovitija vjerojatno zbog sinergije progestina (kao dijela formulacije oralnog kontraceptiva) i inhibitora aromataze. Nedostatak inhibitora aromataze njihovi su potencijalni neželjeni učinci (mučnina, malaksalost, napadaji vrućine, bolovi u kostima i mišićima, periferni edemi, porast tjelesne mase, glavobolja i osteoporoza). Kako bi se izbjegli neželjeni učinci, trebalo bi izabrati prirodne sastavnice jednakog djelovanja. Godine 2012. u Brazilu je provedeno ispitivanje djelovanja takve kombinacije resveratrola i oralnih kontraceptiva na smanjenje dismenoreje (47). Učinak resveratrola na bol se ispitivao na 12 pacijentica u dobi 22-37 godina s laparoskopski dijagnosticiranom endometriozom koje su nakon šest mjeseci korištenja oralnog kontraceptiva (3 mg drospiridona i 30 µg etinilestradiola) još uvijek osjećale bol u obliku dismenoreje i dispareunije. Postojećoj terapiji pridodano je 30 mg resveratrola dnevno. Biberoglu-Behrmanova ljestvica koja se sastoji od tri simptoma (dismenoreja, dispareunija i bolovi u zdjelici koji nisu povezani s menstruacijom) i dva znaka procijenjena tijekom pregleda zdjelice (osjetljivost zdjelice i otvrdnuće), prilagođena je za potrebe ove studije. Ocjenjivala se samo dismenoreja kao simptom, odnosno kako takva bol utječe na smanjenje radne učinkovitosti i potrebu za odmorom u krevetu. Ocjenjuje se na ljestvici od 0 do 3, a veći broj ukazuje na ozbiljnije simptome: 0 - odsutnost boli; 1- blaga bol,

blagi gubitak radne učinkovitosti; 2 - bol zahtjeva odmor jedan dio dana, povremeni gubitak radne učinkovitosti; 3 - jedan ili više dana u krevetu zbog nepodnošljive boli. Ovakav upitnik pacijentice su ispunile prije početka korištenja oralnog kontraceptiva, tijekom korištenja i nakon dodatka resveratrola uz postojeću terapiju. Prije početka terapije najčešća ocjena stupnja boli bila je 3. Nakon šest mjeseci korištenja oralnog kontraceptiva pacijentice su stupanj boli ocjenjivale puno nižom ocjenom ( $2,1 \pm 0,5$ ), međutim, niti jedna pacijentica nije zabilježila potpun izostanak boli. Daljnji značajni pad rezultata na ljestvici postignut je nakon dva mjeseca primjene 30 mg/dan resveratrola. Potpuni prestanak dismenoreje i bolova u zdjelici ocijenilo je 82 % pacijentica. Iako ovi rezultati sugeriraju da resveratrol pojačava učinak oralnih kontraceptiva kod liječenja dismenoreje uzrokovane endometriozom, moramo imati na umu da ova studija ima svoja ograničenja jer nije dizajnirana kao slijepa i randomizirana (47).

Navedena studija i smjernice ESHRE (engl. *European Society of Human Reproduction and Embryology*) bile su poticaj drugoj brazilskoj skupini znanstvenika koji su 2017. dizajnirali randomiziranu, dvostruko slijepu, placebo kontroliranu kliničku studiju s primarnim ciljem da se potvrdi ili opovrgne prednost uzimanja resveratrola uz oralne kontraceptive u smanjenju boli uzrokovane endometriozom. U studiju su bile uključene 44 žene u dobi 20-50 godina, s laparoskopski dijagnosticiranom endometriozom. Kriteriji isključenja bili su: trudnoća, alergije na resveratrol ili komponente oralnog kontraceptiva te korištenje hormonskih pripravaka u zadnjih tri mjeseca. Prvi dan pacijentice su randomizirane i jedna skupina ( $n = 22$ ) je dobila kombinirani oralni kontraceptiv (levonorgestrel 0,15 mg / etinilestradiol 0,03 mg) uz placebo, a druga skupina ( $n = 22$ ) isti kontraceptiv uz 40 mg resveratrola. Bol se procjenjivala prvog i sedmog te 21. i 42. dana studije metodom vizualno-analogne ljestvice (VAS) za mjerenje subjektivnoga intenziteta boli (pacijentica na crti duljine 10 cm označi točku koja označuje intenzitet boli gdje je 0 stanje bez boli, a 10 najjača bol). Nakon sedam dana intenzitet boli bio je značajno smanjen u skupini koja je uz kombinirani oralni kontraceptiv uzimala resveratrol.

Na kraju studije intenzitet boli u kontrolnoj skupini bio je 3,9, dok je u skupini koja je dodatno primala resveratrol ocijenjen kao 3,2. Ove vrijednosti nisu statistički značajno različite. Neka od ograničenja koja bi možda promijenila ishode ove studije su trajanje te izbor kombinacije kontraceptiva i pacijentica prema stupnju endometrioze te manje pristran način utvrđivanja učinka. Uzimajući sve u obzir, može se zaključiti da dodatak 40 mg resveratrola dnevno, uz kombinirani oralni kontraceptiv, nema prednosti u smanjenju boli u žena s endometriozom u usporedbi s učinkom koji postiže kontraceptiv bez resveratrola (48).

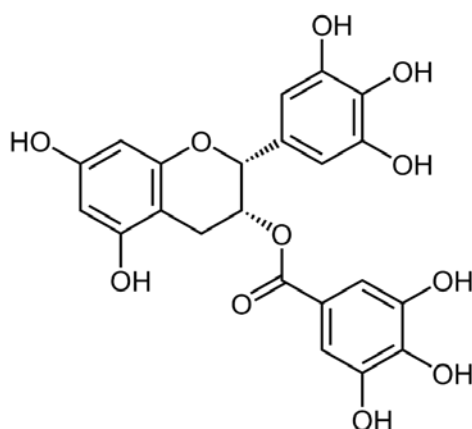
#### 4.1.3. Epigalokatehin-3-galat (EGCG)

Čajevac - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae, originalno potječe iz Kine i uzgaja se na visinama od 100 do 2000 metara nadmorske visine (slika 9). Zeleni čaj dobiva se sabiranjem mladih listova ove biljke koji se odmah nakon branja zagrijavaju (izlaganjem vodenoj pari ili suhim prženjem u tavama) kako bi se inaktivirali enzimi i spriječile oksidacijske promjene.



Slika 9. Uzgoj čajevca  
(<https://www.cajevi.hr>)

Svježi listovi čajevca bogati su polifenolima (5-27 %), većinom iz skupine flavanola. Monomeri flavanola, poznati kao katehini, najznačajnije su biološki aktivne sastavnice zelenog čaja: epigalokatehin-3-galat (EGCG), epigalokatehin (EGC), epikatehin-3-galat (ECG), epikatehin (EC), galokatehin i katehin. Najvažniji među njima je svakako EGCG (slika 10). Najviše ga sadrže lisni pupoljci i prvi, najmlađi listovi, a udio u osušenim listovima iznosi 8-12 %. Katehini se većinom nalaze u bijelom i zelenom čaju. Stručni radovi pišu o djelovanju zelenog čaja pri regulaciji tjelesne mase i smanjenju pojavnosti kardiovaskularnih bolesti, a studije na životinjskom modelu pokazale su da prisutni polifenoli mogu utjecati na povećanje aktivnosti enzima koji sprečavaju oksidacijske procese u organizmu, što pridonosi prevenciji nastanka karcinoma (49).



Slika 10. Epigalokatehin-3-galat

([https://en.wikipedia.org/wiki/Epigallocatechin\\_gallate](https://en.wikipedia.org/wiki/Epigallocatechin_gallate))

Provedene *in vitro* studije i studije na životinjskom modelu otkrivaju nam kako EGCG može inhibirati staničnu proliferaciju, migraciju, naseljavanje i kontrakciju stanica eutopičnog i ektopičnog endometrija (50).



Kinesko sveučilište u Hong Kongu od 2016. provodi randomiziranu, dvostruko slijepu studiju kontroliranu placebo, s ciljem procjene učinkovitosti i sigurnosti primjene zelenog čaja u slučaju endometrioze (51). Planirani završetak studije je 2022. godina, a predviđeno je uključivanje 185 žena u dobi 18-40 godina. Kriteriji uključivanja u studiju su: bol u zdjelici, dismenoreja i/ili dispareunija koje traju više od šest mjeseci; ocjena boli na verbalnoj ljestvici viša od 4 (od mogućih 10) te viša od 4 na vizualno-analognoj ljestvici; ultrazvukom potvrđena endometrioza i kirurško liječenje planirano u sljedećih 4-6 mjeseci. Sve vrijednosti relevantnih parametara mjere se prije početka, te ponovo nakon tri mjeseca tretmana. Jedna skupina dobiva dva puta dnevno placebo, a druga oralni dodatak prehrani pod zaštićenim imenom Sunphenon®, dva puta 400 mg dnevno. Sunphenon® je ekstrakt zelenog čaja standardiziran na 95 % epigalokatehin-3-galata. Proučavani parametri su:

- a) promjena veličine lezije izmjerena pomoću strukturne MR;
- b) promjena stupnja jačine boli procijenjena verbalnom ESS ljestvicom (*Endometriosis Symptom Severity verbal rating scale*) i VAS grafičkom ljestvicom, a obje imaju raspon vrijednosti od 0 (bez boli) do 10 (nepodnošljiva bol);
- c) promjena kvalitete života procijenjena pomoću ispunjavanja upitnika SF36 koji sadrži 36 pitanja podijeljenih u osam kategorija;
- d) promjena u rastu ektopičnog endometrijskog tkiva procijenjena patološkom analizom (biopsija tkiva prije i nakon terapije);
- e) broj i gustoća novonastalih krvnih žila u endometrijskom tkivu mjerena magnetskom rezonancijom čiji je prikaz poboljšan dodatkom gadolinijских kontrastnih sredstava;
- f) broj sudionica koje su doživjele neželjene učinke.

Ova studija je u tijeku, pa se rezultati o stvarnom učinku EGCG-a na endometriozu tek očekuju.

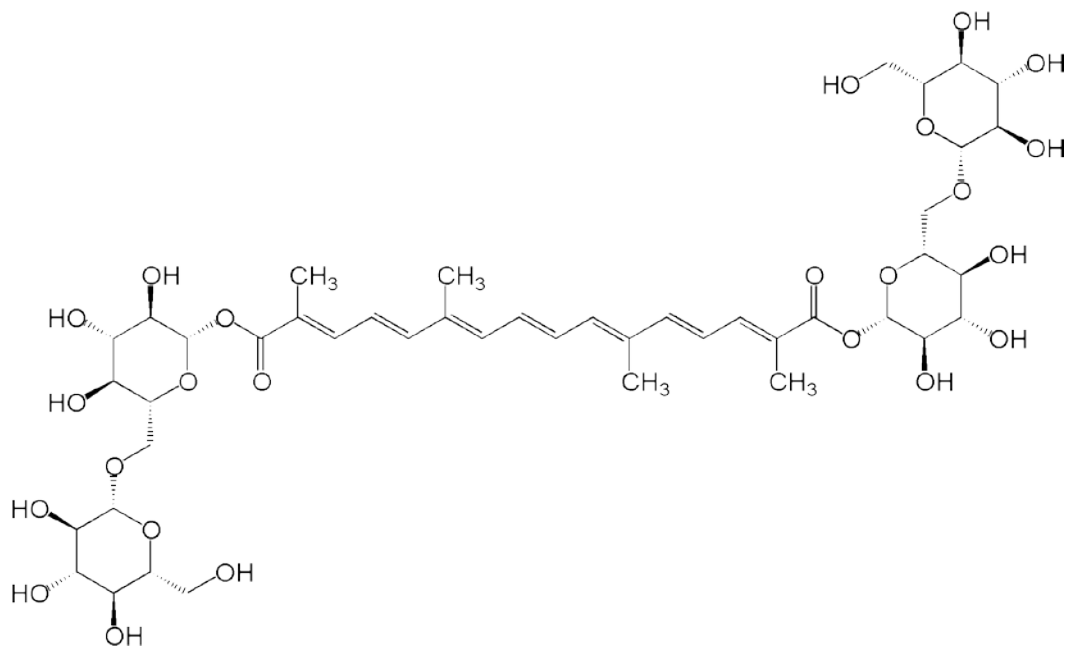
#### 4.1.4. Krocin

Šafran - *Crocus sativus* (L.) je biljka iz porodice Iridaceae (slika 11) rasprostranjena u Europi, Turskoj, Iranu, Indiji i na području oko Crnog mora. Njuške tučka šafrana koriste se od antičkih vremena kao začin, sredstvo za bojanje te dodatak parfemima i kozmetičkim proizvodima. Služi od davnina u tradicionalnoj medicini kao relaksans i stimulans, ekspektorans, spazmolitik, sredstvo protiv mikroorganizama, nadutosti i za poticanje usporene probave. Znanstvena istraživanja ljekovita svojstva šafrana uglavnom pripisuju glavnim djelatnim sastavnicama iz skupine karotenoida - krocetinu, krocinu i safranalu. Krocin je diester koji nastaje vezanjem disaharida genciobioze na krocetin (slika 12) i odgovoran je za narančastu boju tučka šafrana (52).



Slika 11. Šafran

(<https://www.pacroyal.com/in-the-garden/saffron-crocus-sativus-15-bulbs>)



Slika 12. Krocin

(<https://en.wikipedia.org/wiki/Crocin>)

Primjenom različitih *in vivo* i *in vitro* modela ispitivanja ustanovljeni su pozitivni učinci šafrana na poremećaje neurološkog, kardiovaskularnog, respiratornog, gastrointestinalnog, endokrinog i mokraćnog sustava. Ustanovljeno je antihipertenzivno, citotoksično, antikonvulzivno, protektivno, antidepresivno, protuupalno, antimikrobno, antiulcerozno, hipolipemično, dermatološko i antiparazitsko djelovanje. Smatra se da je glavna biološka aktivnost šafrana vezana za njegova snažna antioksidacijska svojstva (53).

Potencijalni učinci krocina na endometriozu ispitani su na animalnom modelu 2018. godine u Kini. Miševima je intraperitonealnom injekcijom inducirana endometrijoza i podijeljeni su u tri skupine po 10 jedinki. Prva skupina nije tretirana, a druga (kontrolna) skupina je dobivala fiziološku otopinu i.p. tijekom narednih 20 dana. Trećoj skupini je oralnom gavažom davano 25 mg/kg krocina. Miševi su eutanizirani 21. dan nakon indukcije endometrijoze, a novonastale lezije su obrađene.

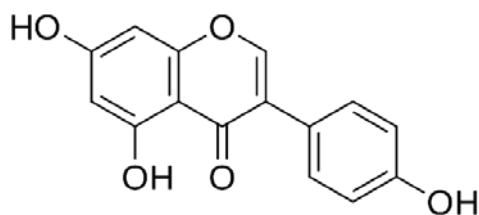
Razine relevantnih parametara IL-6, TNF- $\alpha$  i VEGF određene su ELISA testovima. Rezultati su pokazali da u skupini koja je primala fiziološku otopinu nije došlo do smanjenja lezija, dok su lezije u ispitivanoj skupini bile značajno manje i lakše, što ukazuje da krocin može ometati rast endometriotičnih lezija. Nadalje, krocin je inhibirao ekspresiju VEGF-a te smanjio serumske razine TNF- $\alpha$  i IL-6, dokazujući protuupalna svojstva. Budući da liječenje hormonskim pripravcima ne djeluje na ektopičnu implementaciju već samo ublažava simptome endometrioze, autori smatraju da bi se krocin, kao sastavnica s vrlo raznolikom biološkom aktivnošću, trebao dalje klinički ispitivati (52).

#### **4.1.5. Genistein**

Soja (*Glycine max* L.) je mahunarka koja zauzima važno mjesto u prehrambenoj i poljoprivrednoj industriji (slika 13). Najvažnija skupina spojeva u sojinim sjemenkama odgovorna za antioksidacijsko djelovanje su polifenoli. Među njima se ističu izoflavoni genistein (slika 14) i daidzein te njihovi derivati. Bioaktivnost izoflavona (poznatih i pod nazivom fitoestrogeni) temelji se na strukturnoj sličnosti s estrogenom sisavaca (17 $\beta$ -estradiol), što znači da mogu oponašati ulogu estrogena u ljudskom organizmu. Većina izoflavona je sposobna transaktivirati oba estrogenska receptora, ali neki poput genisteina i ekvola pokazuju veći afinitet za estrogenski receptor  $\beta$  nego za receptor  $\alpha$  (54).



Slika 13. *Glycine max* L. (soja)  
(<https://www.britannica.com/plant/soybean>)



Slika 14. Genistein  
(<https://sh.wikipedia.org/wiki/Genistein>)

Provedena je studija na životinjama s ciljem da se ispita utječe li genistein na estrogenske receptore te inhibira li upalu i angiogenezu u endometriozu. Trideset šest miševa podijeljeno je u šest brojčano jednakih skupina: kontrolnu, skupinu s induciranom endometriozom, tri skupine s induciranom endometriozom kojima su oralno dane različite doze genisteina (0,78, 1,04 i 1,3 mg/dan) i skupinu s induciranom endometriozom kojoj je davan leuprolid-acetat (0,00975 mg/dan svaki 5. dan) tijekom 15 dana.

Analize ekspresije estrogenskih  $\alpha$  i  $\beta$  receptora te čimbenika TNF- $\alpha$ , VEGF, IL-6 i hipoksijom inducirani faktor - 1 alfa (HIF-1  $\alpha$ ) provedene su imunohistokemijskim metodama. Primjena različitih doza genisteina smanjila je ekspresiju receptora  $\alpha$  statistički značajno u odnosu na skupinu s induciranom endometriozom koja nije dobivala terapiju. Smanjenje nije ovisilo o primijenjenoj dozi genisteina. Kod skupine koja je dobivala leuprolid-acetat ekspresija je također smanjena, ali to smanjenje nije bilo statistički značajno u odnosu na skupinu s induciranom endometriozom bez terapije. Sve doze primijenjenog genisteina statistički značajno su povećale ekspresiju receptora  $\beta$ , u odnosu na kontrolnu ili skupinu s endometriozom, a ekspresija ponovo nije bila ovisna o dozi genisteina. Genistein primijenjen u dozama 1,04 i 1,3 mg/dan značajno je smanjio ekspresiju TNF- $\alpha$  i IL-6, tako da su bile usporedive s onima iz kontrolne skupine te skupine pokusnih životinja s endometriozom koje su dobivale leuprolid-acetat. Ekspresija VEGF i HIF-1 $\alpha$  značajno se pojačala nakon indukcije endometrioze, dok je zabilježeno značajno smanjenje nakon primjene 1,3 mg/dan genisteina, usporedivo s kontrolnim vrijednostima. Nisu uočeni neželjeni niti toksični učinci genisteina. Neki od zaključaka ove studije su sljedeći:

1. Povećanje ekspresije estrogenskog receptora  $\beta$  ukazuje na protuupalnu ulogu genisteina u određenim dozama;
2. Genistein može smanjiti napredak endometrioze djelujući na VEGF i HIF-1 $\alpha$  koji inače sudjeluju u reguliranju angiogenih signala;
3. Učinak genisteina ima prednosti pred učinkom leuprolid-acetata jer genistein može inhibirati neoangiogenezu koju potiče HIF-1 $\alpha$ .

Ova studija je istaknula genistein kao potencijalni kandidat za ublažavanje simptoma endometrioze jer modulira estrogenske receptore te smanjuje upalu i angiogenezu na animalnom modelu (55).

## 4.2. BILJNI EKSTRAKTI

### 4.2.1. Konopljikin plod

Konopljika - *Vitex agnus-castus* L. iz porodice Verbenaceae (slika 15) još od antičkih vremena poznata je kao ljekovita biljka s djelovanjem na mnoge bolesti, a posebice se isticala kao lijek s hormonskim djelovanjem. U novije doba, konopljikini plodovi se tradicionalno koriste za ublažavanje ženskih tegoba, uključujući menstrualne poremećaje (amenoreju, dismenoreju), predmenstrualni poremećaj, insuficijenciju žutog tijela, hiperprolaktinemiju, akne, menopauzu, poremećenu laktaciju, cikličku mastalgiju, upalna stanja, proljev i nadutost (56). Suvremene kliničke studije podupiru uporabu konopljike za reguliranje menstrualnog ciklusa, olakšanje simptoma predmenstrualnog sindroma te kod mastopatije i klimakterijskih tegoba (57). Izbor konopljike kod ublažavanja simptoma endometrioze temelji se na dugotrajnoj tradicionalnoj upotrebi i djelotvornost još uvijek nije klinički dokazana. Vrlo ograničeni pretklinički dokazi upotrebe konopljike postoje za djelovanje na neplodnost čiji uzrok je poremećaj u lutealnoj fazi ciklusa tijekom endometrioze (58).



Slika 15. *Vitex agnus-castus* L. (konopljika)  
([https://hr.wikipedia.org/wiki/Prstasta\\_konopljika](https://hr.wikipedia.org/wiki/Prstasta_konopljika))

Zreli plodovi konopljike sadrže eterično ulje varijabilnog sastava, a među glavnim sastavnicama ističu se sabinen, 1,8-cineol,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -franezen i  $\beta$ -kariofilen. Ostale važne bioaktivne tvari su iridoidni glikozidi (aukubin, agnuzid), diterpeni (rotundifuran, viteksilakton) i flavonoidi (kasticin, izoorijentin) (59).

Za razliku od konopljike, čija se primjena kod endometrioze temelji uglavnom na tradicionalnim principima, za kinesku konopljiku - *Vitex negundo* L. (slika 16) se mogu pronaći znanstveni dokazi. Potaknuti jednim od najstarijih tradicionalnih medicinskih sistema azijskog kontinenta, Siddha medicinom, u kojoj se često propisivao vodeni ekstrakt lista kineske konopljike za smanjenje simptoma endometrioze, indijski znanstvenici su odlučili provjeriti i znanstveno dokazati učinak vodenog ekstrakta lista kineske konopljike na životinjskom modelu. Trideset dana nakon što su kirurški inducirane, lezijama su izmjerene dužina, širina i visina. Ispitivane štakore su podijelili u dvije skupine po šest jedinki. Kontrolna skupina nije dobivala lijek, dok su pokusne životinje u ispitivanoj skupini peroralno dobivale vodeni ekstrakt kineske konopljike (300 mg/kg) tijekom sljedećih 30 dana. Nakon tretmana ponovo je izmjerena veličina lezija i provedena analiza krvi. U odnosu na kontrolnu skupinu, u ispitivanoj je zabilježeno smanjenje veličine lezija, ali bez statističke značajnosti. No, zabilježeno je značajno povećanje razine antioksidansa (tiola) u krvi i smanjenje razine oksidansa. Ova neklinička studija pokazala je da vodeni ekstrakt lista kineske konopljike može smanjiti veličinu endometriotične lezije. Fitokemijskim ispitivanjem vodenog ekstrakta dokazana je prisutnost kumarina, flavonoida, trjeslovina, saponina i terpena, a autori antiendometriotična svojstva pripisuju polarnijim sastavnicama vodenog ekstrakta. Znanstvenici su zapazili da vodeni ekstrakt ne djeluje na endometriju unutar maternice, nego samo na endometriotične lezije, što ukazuje na njegovo specifično djelovanje.



Predloženi mogući molekularni mehanizam djelovanja testiranog ekstrakta uključuje učinak na estrogenske receptore ili ostale hormonske putove u ektopičnim tkivima endometrija te se ističe višestruki sinergistički učinak različitih bioaktivnih sastavnica (60).



Slika 16. *Vitex negundo* L. (kineska konopljika)

(<https://www.amazon.com/Vitex-negundo-Seeds-Approx/dp/B07Z5KP47X>)

#### 4.2.2. Vrkutina zelen

Rod *Alchemilla* L. čini oko sto vrsta rasprostranjenih širom svijeta, koje su značajno zastupljene u tradicionalnoj medicini temeljem njihovih protuupalnih, antiseptičkih, sedativnih, diuretičkih i adstringentnih svojstava. Među njima se ističe *Alchemilla vulgaris* L., koja je u našim krajevima poznata pod nazivom vrkuta (gospin plašt ili lavlja noga). U medicinske svrhe koriste se nadzemni dijelovi biljke sabrani u razdoblju cvjetanja. Zahvaljujući visokom sadržaju trijeslovina vrkuta ima adstringentno i protuupalno djelovanje, a tradicionalno se koristi za olakšavanje dismenoreje, tegoba menopauze i gastrointestinalnih poremećaja (61).



Slika 17. *Alchemilla vulgaris* L. (vrkuta)

(<https://www.purezanature.com/organic-alchemilla-vulgaris>)

Znanstvenim istraživanjima ustanovljena su angioprotektivna, antitumorska, antioksidacijska, antimikrobna i antivirusna svojstva ove biljke koja, osim trijeslovina, sadrži flavonoide, proantocijanidine i triterpenske kiseline (60, 61). S obzirom da se vrkuta koristi kod mnogih ginekoloških poremećaja, turski su znanstvenici proveli *in vivo* studiju kako bi procijenili potencijalni učinak vrsta *A. mollis* i *A. persica* na endometriozu. Dvadesetosam dana nakon kirurški inducirane endometrioze u 36 štakora izvedena je druga laparoskopija i izmjerene su dimenzije endometriotičnih lezija. Štakori su zatim podijeljeni u šest skupina po šest pokusnih životinja: kontrolnu, referentnu (lijek buserelin-acetat apliciran supkutano, 20 mg dnevno) i po dvije ispitivane skupine koje su dobivale metanolno-vodene ekstrakte nadzemnih i podzemnih dijelova vrsta *A. mollis* i *A. persica* (100 mg/kg). Ustanovljeno je da se površina lezija pri oralnoj primjeni ekstrakta nadzemnih dijelova testiranih vrsta roda *Alchemilla* smanjila. Za vrstu *A. mollis* lezije su smanjene sa 101,5 mm<sup>3</sup> na 11,87 mm<sup>3</sup>, a u peritonealnoj tekućini tih štakora određene su i niže razine proupalnih citokina TNF-a, VEGF i IL-6. Učinak ovih biljnih vrsta kod endometrioze autori su pripisali sadržaju fenolnih sastavnica i snažnim antioksidacijskim svojstvima (63).

### 4.2.3. Ekstrakt kore primorskog bora (piknogenol)

Droga Pini cortex predstavlja koru primorskog bora (*Pinus pinaster* Aiton), a ekstrakt kore nazivamo piknogenol (slika 18). Ekstrakt je bogat proantocijanidinima s izraženim antioksidacijskim i protuupalnim svojstvima. Ustanovljeno je da pozitivno utječe na kardiovaskularni sustav, pomaže u stvaranju kolagena i hijaluronske kiseline te sudjeluje u proizvodnji endotelnog dušikovog monoksida koji pomaže širenju krvnih žila. Piknogenol je pokazao protuupalne i antitrombotske učinke inhibirajući aktivnost enzima COX-1 i COX-2 (64). Još jedan mehanizam kojim piknogenol olakšava bol je potiskivanje ekspresije gena ovisnog o nuklearnom faktoru-kappa-B (NF- $\kappa$ B). NF- $\kappa$ B je transkripcijski faktor s važnom ulogom u imunskim odgovorima, staničnoj apoptozi te ekspresiji gena induciranog citokinima. Taj gen aktivira upalnu kaskadu, što je naročito izraženo kod endometrioze. U eutopičnom endometriju je povećana ekspresija NF- $\kappa$ B, COX-2 i aromataze. Ovakve funkcionalne promjene stvaraju „začarani krug“ pojačane upale i lokalne proizvodnje estrogena, čime se, blokiranjem fagocitoze, potpomaže preživljenje stanica endometrija na ektopičnim mjestima.

Širenje endometrioze ovisi o kontinuiranom usađivanju aromataza-pozitivnih stanica koje se retrogradnom menstruacijom prenose natrag prema zdjelici. Oralni kontraceptivi predstavljaju obećavajući terapijski pristup, ne samo jer su učinkoviti u kontroli boli i smanjenju upale, nego i sprječavanju recidiva bolesti nakon kirurškog zahvata. Njihov kompleksan mehanizam djelovanja obuhvaća blokiranje ovulacije i lokalne učinke u endometriju, kao i u lezijama endometriotičnog tkiva u smislu blokade enzimatskih putova. Hormonska terapija u kombinaciji s prirodnim NF- $\kappa$ B blokatorima posjeduje terapijski potencijal jer se tako pojačava učinkovitost oralnih kontraceptiva bez povećanja učestalosti neželjenih učinaka (65).



Slika 18. *Pinus pinaster* Aiton (primorski bor)

(<https://www.flickr.com/photos/21657471@N04/49680264127>)

Maia i suradnici (66) su 2014. godine u otvorenoj i opservacijskoj studiji procjenjivali učinak piknogenola na bol uzrokovanu endometriozom u pacijentica koje postoperativno koriste hormonalnu terapiju. Studija nije mogla biti dizajnirana kao dvostruko slijepa jer su liječnici prije početka liječenja morali razgovarati s pacijenticama i od njih dobiti suglasnost. Pacijentice u reproduktivnoj dobi (22-37 godina) s laparoskopski dijagnosticiranom endometriozom podijeljene su u četiri skupine: skupina 1 (n = 7) dobivala je jednom dnevno oralni kontraceptiv (75 µg gestoden/30 µg etinilestradiol); skupina 2 (n = 14) je uz navedeni oralni kontraceptiv dobivala 100 mg piknogenola peroralno (50 mg svakih 12 sati); skupina 3 (n = 13) dobivala je jednom dnevno oralni kontraceptiv (3 mg drospirenon/30 µg etinilestradiol); skupina 4 je uz isti oralni kontraceptiv dobivala i 100 mg piknogenola.

Pacijentice su prije početka ispitivanja ocijenile intenzitet bolova u zdjelici (uključujući dismenoreju) prema vizualno-analognoj ljestvici, a isto su napravile nakon tri mjeseca tretmana. Rezultati su pokazali statistički značajno smanjenje srednje vrijednosti intenziteta boli za skupine 2 i 4 u kojima se 57 % i 54 % ispitanica izjasnilo o potpunom nestanku boli, dok takvih rezultata nije bilo u skupinama koje su uzimale samo oralni kontraceptiv. Pri primjeni kontraceptiva u kombinaciji s pknogenolom nisu primijećeni dodatni neželjeni učinci, a ustanovljeno je jače smanjenje zdjelice boli u odnosu kad su primijenjeni samo oralni kontraceptivi. U zaključku je istaknuta potreba daljnjih kliničkih istraživanja (66).

Agonisti gonadotropin oslobađajućeg hormona (engl. *gonadotropin releasing hormone*, GnRH), zbog supresivnog djelovanja na hipofizu i sekreciju gonadotropina, dovode do pada razine estrogena pri kontinuiranoj primjeni. Liječenje se provodi tijekom šest mjeseci i dovodi do olakšanja ili nestanka menstrualne boli uzrokovane endometriozom. Nadalje, pokazalo se da postoperativna primjena agonista GnRH tijekom šest mjeseci smanjuje petogodišnju pojavu recidiva za 25-70 %. No, treba uzeti u obzir hipoestrogene nuspojave koje mogu uzrokovati nakon dugotrajne primjene poput valova vrućine, znojenja i osteoporoze. U studiji iz 2007. godine japanski znanstvenici su ispitivali potencijal pknogenola u usporedbi s agonistom gonadotropin oslobađajućeg hormona, leuprorelin-acetatom, na ublažavanje simptoma povezanih s kirurški i klinički dijagnosticiranom endometriozom. Pet godina je trajalo ispitivanje u kojem je sudjelovalo 58 žena u dobi od 21 do 38 godina, s umjerenom ili teškom dismenorejom. Prije te nakon 4, 12, 24 i 48 tjedana tretmana, pacijentice su ocjenjivale intenzitet boli i učestalost nuspojave. Prije početka se serološki određivao tumorski biljeg CA-125 i estradiol. Pacijentice su randomizirane u dvije skupine: pknogenol skupinu (n = 32) koja je peroralno uzimala 30 mg pknogenola nakon doručka i večere i GnRH-a skupinu (n = 26) koja je svaka četiri tjedna supkutano dobivala jednu depo injekciju 3,75 mg leuprorelin-acetata, ukupno šest injekcija tijekom 24 tjedna.

U obje skupine zabilježeno je smanjenje intenziteta boli, no u skupini kojoj je apliciran agonist GnRH došlo je do učinkovitijeg smanjenja. Nedostatak je bio recidiv simptoma 24 tjedna nakon prestanka korištenja. U obje skupine zabilježeno je smanjenje serumske vrijednosti tumorskog markera CA-125, iako učinkovitije u GnRH-a skupini. Neželjeni učinci pri primjeni pknogenola su bili blagi i prolazni, poput disfunkcionalnog krvarenja iz maternice, bolova u trbuhu, pojačanog menstrualnog krvarenja i akni. U skupini koja je primala agonist GnRH neželjeni učinci su bili intenzivniji, uključujući navale vrućine, opće nelagode i križobolje, što se može povezati sa smanjenjem funkcije jajnika i posljedično smanjenjem vrijednosti estradiola. Upotreba pknogenola nije uzrokovala hipoestrogenizam, a pokazala se učinkovita tijekom dugoročne primjene za smanjenje simptoma dismenoreje i bolova u zdjelici. Iako do djelovanja pknogenola dolazi sporije, ova je studija pokazala da primjena pknogenola može biti učinkovita terapijska alternativa lijekovima koji imaju djelovanje na hormonski sustav, uz izbjegavanje neželjenih učinaka i brzog recidiva simptoma (67).

#### **4.2.4. Ostale biljne vrste**

Literatura navodi i mnoge druge biljne vrste s potencijalnim djelovanjem kod endometrioze, međutim, učinci nisu u potpunosti dokazani i većinom se temelje samo na predloženom mehanizmu djelovanja. Primjerice, vrste roda *Ehinacea* su snažni antioksidansi i stimuliraju rad imunskog sustava, pojačavaju proizvodnju fagocita i imunoglobulina te stoga mogu smanjiti upalu u žena s endometriozom. Vrsta *Centella asiatica* L. (Gotu kola) koristi se zbog svojih protuupalnih i antimikrobnih učinaka. Gospina trava - *Hypericum perforatum* L. snažan je induktor enzima CYP3A4 te time pojačava metabolizam nekih lijekova, kao što su kortikosteroidi i etinilestradiol. Stoga bi mogla utjecati na sposobnost vezanja estrogena kad su vrijednosti tog hormona u organizmu visoke, što je slučaj kod endometrioze. Ovu biljku također treba uzeti u obzir zbog blagotvorne uloge u liječenju blage do umjerene depresije koja može pratiti žene koje kronično boluju od endometrioze (68).

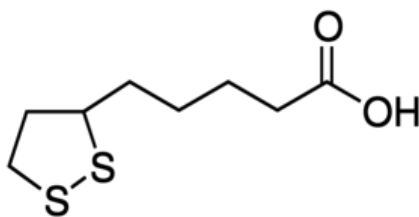
## **4.3. MIKRONUTRIJENTI**

### **4.3.1. Antioksidansi**

Pod pojmom endometrioze podrazumijevamo različite procese koje povezujemo s oksidacijskim stresom poput preživljenja ektopičnog tkiva izvan maternice, potiskivanja imunoloških mehanizama, adherencije na peritoneum i angiogeneze, rasta lezija i upale. Poremećajem ravnoteže između proizvodnje reaktivnih kisikovih spojeva i antioksidansa u organizmu dolazi do oksidacijskog stresa. Uzroci poremećaja ravnoteže su smanjenje antioksidacijske zaštite organizma ili povećano stvaranje slobodnih radikala. Kako bi ponovo uspostavili narušenu ravnotežu izuzetno je bitno koristiti potencijal antioksidansa koji mogu neutralizirati višak slobodnih radikala. Kako bi ublažile bolove, žene reproduktivne dobi koje žele ostvariti trudnoću, trenutno mogu odabrati jedino analgetike i/ili protuupalne lijekove (69).

#### **Alfa-lipoična kiselina**

Alfa-lipoičnu kiselinu mogu sintetizirati biljke i životinje. Izolirana je iz goveđe jetre 1951. godine i prvotno je smatrana vitaminom (slika 19). U ljudskom organizmu nalazimo je u svakoj stanici tijela jer sudjeluje u procesu stvaranja energije. Naročito se naglašava antioksidacijsko djelovanje ove masne kiseline jer lako neutralizira slobodne radikale i kelira metale, a zbog amfifilnog karaktera ulazi u sve stanice, stupa u reakciju s ostalim antioksidansima i regenerira ih, a pritom ne izaziva značajnije nuspojave. Provedene kliničke studije uglavnom pokazuju pozitivno djelovanje alfa-lipoične kiseline na smanjenje tjelesne težine i ublažavanje periferne dijabetičke neuropatije (70).



Slika 19. Alfa-lipoična kiselina

(<https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/product/sigma/62320>)

U Italiji je provedena klinička studija čiji je cilj bio procijeniti učinkovitost primjene alfa-lipoične kiseline (ALA) u kombinaciji s palmitoil etanolaminom (endogeni amid masnih kiselina, PEA) na kvalitetu života i seksualno zdravlje žena koje pate od kronične zdjelične boli uzrokovane endometriozom (71). PEA je prepoznat kao supstancija koja može modulirati aktivaciju mastocita, što rezultira smanjenjem boli u zdjelici. Studija je provedena na 56 žena u dobi 18-31 godina, a trajala je od siječnja do rujna 2014. godine. Dijagnoza je klinički potvrđena, uz postojeće simptome dismenoreje, necikličke boli u zdjelici i dispareunije. Transvaginalnim ultrazvukom određen je i tip endometrioze. U studiju su bile uključene žene koje su mjesec prije početka barem jednom bile seksualno aktivne zbog procjene indeksa ženske seksualne funkcije. Metoda određivanja ispitivanih parametara bila je ispunjavanje:

1. vizualno-analogne ljestvice za određivanje stupnja zdjelične boli, s rasponom od nula (bez boli) do deset (nepodnošljiva bol);
2. upitnika SF36 za kvalitetu života koji sadrži 36 pitanja podijeljenih u osam kategorija;
3. indeksa ženske seksualne funkcije koji ispituje seksualnu aktivnost i sadrži šest kategorija pojmova čija se učestalost zbivanja boduje na ljestvici od 0 (bez) do 5 (vrlo često);
4. ljestvice ženskog seksualnog (ne)zadovoljstva koja ima 12 pitanja;
5. dnevnika u koji su žene bilježile eventualne nuspojave i upotrebu lijekova protiv bolova u slučajevima kad je to bilo potrebno.



Nakon mjerenja početnih vrijednosti ispitivanih parametara pacijentice su počele primjenu kombiniranog pripravka (300 mg PEA i 300 mg ALA), jedna tableta dva puta dnevno tijekom devet mjeseci. Studija je uključivala tri točke praćenja nakon 3, 6 i 9 mjeseci tretmana, kad su ponovno ispunjeni upitnici. U prva tri mjeseca ovaj kombinirani pripravak nije značajno djelovao na simptome kronične zdjelične boli, dismenoreju i dispareuniju. Statistički značajna razlika bila je uočljiva tek nakon šest i devet mjeseci primjene. Nakon devet mjeseci, kronična zdjelična bol smanjila se za 65,3 %, dismenoreja za 66,9 %, a dispareunija za 62,2 %. Statistički značajno poboljšanje kvalitete života ( $p < 0,05$ ) u svim kategorijama zabilježeno je također nakon šest i devet mjeseci tretmana. Nakon tri mjeseca primjene pripravka, zabilježene su statistički značajne pozitivne promjene u seksualnom zdravlju i seksualnoj funkciji žena. Na kraju tretmana frekvencija seksualne aktivnosti porasla je s početnih 2,1 na 4,2. Nakon šest mjeseci primjena lijekova protiv bolova je smanjena za 70 %, a nakon sljedeća tri mjeseca za 78 %, što također predstavlja statistički značajan pomak. Rezultati studije su pokazali da ovaj kombinirani pripravak ima određeno početno latentno razdoblje do pojave smanjenja simptoma endometrioze te da se tek nakon trećeg mjeseca primjene može očekivati pravi učinak. Ublažavanje najučestalijih simptoma endometrioze, kao što su kronična zdjelična bol i dismenoreja, posljedično smanjuje potrebu za uzimanjem analgetika i dovodi do pozitivnih promjena u kvaliteti života te seksualnoj aktivnosti i funkciji žena. Kako bi na vrijeme spriječili razvoj kronične zdjelične boli i njezin negativan utjecaj na kvalitetu života žene u reproduktivnoj dobi, znanstvenici predlažu primjenu pripravka koji sadrži ALA i PEA već od adolescentske dobi (71).

## **Kombinacije antioksidansa**

Godine 2018. španjolski znanstvenici su analizirali djelovanje kombiniranog pripravka na kroničnu zdjeličnu bol. U multicentričnoj, otvorenoj, nekomparativnoj kliničkoj studiji provedenoj na 398 žena ( $34,6 \pm 7,2$  godina) određivao se udio ispitanica koje su izvijestile o smanjenju simptoma zdjelične boli nakon što su šest mjeseci uzimale kombinirani pripravak u dnevnoj dozi od dvije tablete koje su zajedno sadržavale 600 mg N-acetilcisteina, 200 mg alfa-lipoične kiseline, 25 mg bromelaina i 10 mg cinka. Endometrioza je dijagnosticirana magnetskom rezonancom ili kirurški, a manifestirala se kroničnom boli u zdjelici, dismenorejom ili dispareunijom. Isključujući kriterij za sudjelovanje bilo je korištenje oralnih kontraceptiva ili hormonskih lijekova u zadnjem menstrualnom ciklusu. Na početku studije izmjeren je intenzitet boli u zdjelici vizualno-analognom ljestvicom i klasificiran je kao blag ako je iznosio 4-5, umjeren 6-7 i težak 8-10. Intenzitet boli izmjeren je opet istom metodom nakon tri i šest mjeseci tretmana. Rezultati su pokazali statistički značajno smanjenje udjela ispitanica koje su nakon tri mjeseca tretmana intenzitet boli ocijenile sa 4 i više. Početne vrijednosti udjela pacijentica smanjile su se nakon tri mjeseca sa 92,7 % na 87,2 %, a u sljedeća tri mjeseca korištenja kombiniranog pripravka na 82,7 %. Tijekom studije zabilježena su 52 slučaja povlačenja iz ispitivanja, od kojih je 27 bilo zbog ostvarivanja trudnoće, a 25 zbog neizdržive boli ili neželjenih učinaka (mučnina i povraćanje). Povećana proizvodnja reaktivnih kisikovih spojeva ili nedostatak endogenih antioksidacijskih mehanizama dovodi do neravnoteže na koju možemo utjecati primjenom N-acetilcisteina. Ovaj oblik aminokiseline sudjeluje u sintezi glutaciona, glavnog unutarstaničnog antioksidansa. Već su 2003. godine proučavani molekularni mehanizmi djelovanja N-acetilcisteina u kardiovaskularnom i respiratornom sustavu: protuupalno djelovanje koje postiže inhibicijom citokina, antiangiogeno djelovanje koje se postiže inhibicijom vaskularnog endotelnog čimbenika rasta i inhibitorno djelovanje na matriksne metaloproteinaze (72).

Zbog ovakvog djelovanja vjerojatno je da korištenje N-acetilcisteina dovodi do povoljnih učinaka kod oksidacijskog stresa, što može rezultirati i smanjenjem zdjelične boli koje uzrokuje endometrioza. Autori navode i neke nedostatke ovog ispitivanja. Nije bio određen fenotip endometrioze i to je bila opservacijska studija u kojoj se primjena kombiniranog pripravka nije uspoređivala s nekim drugim oblikom liječenja. Zaključuju da, usprkos nedostacima ispitivanja, rezultati pokazuju kako kombinirani pripravak ovakvog sastava može olakšati simptom zdjelične boli (73). Slika 20 prikazuje vizualno-analognu ljestvicu prema kojoj se procjenjuje intenzitet boli u endometriozu.



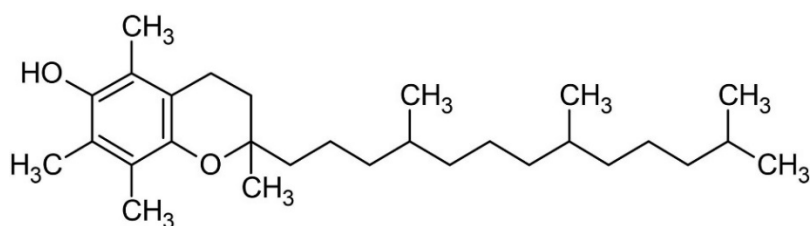
Slika 20. Vizualno-analogni ljestvica (74)

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) je snažan antioksidans koji hvatajući slobodne radikale može spriječiti lipidnu peroksidaciju u stanicama (slika 21). Molekula  $\alpha$ -tokoferola gubi svoje antioksidacijsko svojstvo kad neutralizira slobodni radikal. Drugi antioksidansi, kao što je vitamin C (slika 22), regeneriraju antioksidacijsko svojstvo  $\alpha$ -tokoferola, pa se zato preporučuje istovremeno uzimanje. U Sjedinjenim Američkim Državama godine 2012. provedeno je randomizirano ispitivanje, kontrolirano placebo skupinom, s ciljem da se procijeni kako vitamini E i C djeluju na ublažavanje simptoma bolova u zdjelici uzrokovanih endometriozom. U ispitivanju je sudjelovalo 59 žena u dobi 19-41 godina koje su imale simptome kronične zdjelične boli i neplodnosti. Ispitivana skupina ( $n = 46$ ) je jednom dnevno tijekom osam tjedana dobivala 1200IU vitamina E i 1000mg vitamina C, dok je u placebo skupini ( $n = 13$ ) korištena placebo

tableta. Pacijentice su na početku ispitivanja i nakon svaka dva tjedna ispunjavale vizualno-analogne ljestvice boli i upitnike o kvaliteti života. Nakon osam tjedana napravljena je laparoscopska operacija tijekom koje je izvađen uzorak peritonealne tekućine. Peritonealna tekućina ima dinamičnu ulogu u etiologiji endometrioze. Kako bolest napreduje tako dolazi do povećanja njezinog volumena te pratećeg porasta razine upale, oksidacijskog stresa i širenja čimbenika koji izazivaju bol. Sama prisutnost tih čimbenika povezuje se s pojavom bolesti, a tu ubrajamo: prostaglandine, interleukin 1 (IL1), interleukin 6 (IL6), čimbenik privlačenja monocita-1 (MCP-1), čimbenik tumorske nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ) i kemokin RANTES. U peritonealnoj šupljini nalaze se aktivirani makrofagi koji stvaraju okoliš pogodan za oksidacijski stres, a time i rast ektopičnog endometrija. Uzimanjem uzorka peritonealne tekućine željelo se provjeriti može li primjena antioksidansa smanjiti biomarkere oksidacijskog stresa i utjecati na bolove u zdjelici. Razine upalnih čimbenika obje skupine izmjerene su imunoenzimskim ELISA testom. U ispitivanoj skupini pronađene razine IL6 bile su statistički značajno niže od onih u placebo skupini ( $p < 0,05$ ). Statistički značajan rezultat dobiven je u ispitivanoj skupini i za smanjenje svakodnevne boli ( $p = 0,0055$ ), dok se tijekom ispitivanja u placebo skupini bol nije smanjivala. Zabilježeno je kliničko smanjenje dismenoreje i dispareunije, međutim, rezultati nisu imali statističku značajnost. Ograničenja ove studije temelje se na malom broju ispitanica, ali rezultati su pokazali da vitamini s antioksidacijskim svojstvima mogu učinkovito djelovati na smanjenje kronične boli u zdjelici u žena s endometriozom (75).

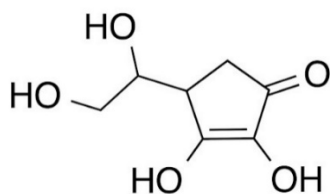
Ove godine u Iranu provedena je još jedna klinička studija koja procjenjuje kako suplementacijom antioksidansa možemo utjecati na indeks oksidacijskog stresa kao i na intenzitet boli u žena s endometriozom. Znanstvenike je potaknula sve jača kvaliteta dokaza kako žene s endometriozom, u usporedbi sa zdravim ženama, imaju veće razine malondialdehida (MDA) i reaktivnih kisikovih molekula, uz niži ukupni antioksidacijski

kapacitet. U ovu trostruko slijepu, randomiziranu i placebom kontroliranu studiju bilo je uključeno 60 žena u dobi 15-45 godina kojima je laparoskopski potvrđena dijagnoza te su patile od kronične zdjelične boli. Tijekom osam tjedana skupina A (n = 30) je dobivala kombinirani pripravak 1000mg vitamina C i 800IU vitamina E jednom dnevno, a skupina B placebo tabletu. Uzorci krvi analizirani su ELISA metodom prije početka i nakon tretmana. Vizualno-analognom ljestvicom procjenjivan je intenzitet boli (kronična zdjelična bol, dismenoreja i dispareunija) prije početka i svaka dva tjedna tijekom ispitivanja. Rezultati su pokazali da uzimanje vitamina C i E, statistički značajno smanjuje razine MDA ( $p = 0,002$ ) i ROS ( $p < 0,001$ ) u usporedbi s placebom, ali ne utječe na razinu ukupnog antioksidacijskog kapaciteta. Mjerenja VAS ljestvicom dala su također statistički značajne rezultate u skupini A za smanjenje intenziteta dismenoreje, dispareunije i kronične zdjelične boli ( $p < 0,001$ ). U placebo skupini došlo je do statistički značajnog smanjenja boli kod dismenoreje i dispareunije, dok se intenzitet kronične zdjelične boli pojačao. Usporedba rezultata između skupina pokazala je veće statistički značajno smanjenje vrijednosti u skupini A. Podaci dobiveni u ovoj studiji potvrdili su pozitivni učinak antioksidansa kod izraženih simptoma endometrioze. Potrebno je provesti veće i duže kliničke studije kako bi se ispitala potrebne doze i trajanje primjene (76).



Slika 21. Vitamin E

(<https://www.abcam.com/vitamin-e-dl-alpha-tocopherol-fat-soluble-antioxidant-ab142968.html>)

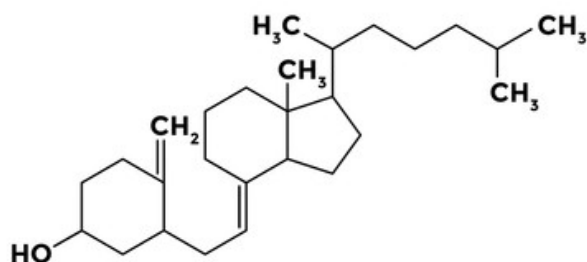


Slika 22. Vitamin C

([http://www.thecosmeticchemist.com/molecule\\_of\\_the\\_week/ascorbic\\_acid.html](http://www.thecosmeticchemist.com/molecule_of_the_week/ascorbic_acid.html))

#### 4.3.2. Vitamin D

Vitamin D pripada skupini vitamina topljivih u mastima (slika 23). Zahvaljujući UVB svjetlosti može se sintetizirati u koži iz endogenog kolesterola (7-dehidrokolesterola). Iz kože u jetru prenosi se vezan za vitamin D vežući protein (DVP). U ljudi i sisavaca u organizmu se stvara vitamin D<sub>3</sub>, a u biljnim izvorima nalazi se vitamin D<sub>2</sub>. Iako je u ljudi glavni izvor vitamina D njegova sinteza u koži, ponekad su potrebni prirodni izvori kao ulje jetre bakalara i drugih masnih riba, plodovi mora, shiitake gljive, jetra ili žumanjak jajeta. Vitamin D<sub>3</sub> unesen prehranom oslobađa se u želucu i crijevima te se zatim uklapa u micelle i prenosi do crijevnih resica, gdje se apsorbira pasivnom difuzijom. Nakon apsorpcije ugrađuje se u hilomikrone i prenosi do jetre putem limfnog sustava ili krvotoka. Početna hidroksilacija je u jetri na 25-hidroksikolekalciferol (kalcidiol), koji je glavni cirkulirajući oblik i klinički pokazatelj statusa. DVP-a prenosi kalcidol u bubrege, gdje se pomoću enzima 1  $\alpha$ -hidroksilaze pretvara u biološki aktivan oblik 1,25-dihidroksikolekalciferol (kalcitriol). Za metabolizam vitamina D važni su enzimi 25-hidroksilaza, 1 $\alpha$ -hidroksilaza i 24-hidroksilaza koji djeluju uz pomoć citokroma P450. Neke od uloga vitamina D su regulacija koncentracije kalcija u plazmi i mineralizacija kostiju, a ovaj vitamin je također učinkovit kao modulator imunosnog sustava (77).



Slika 23. Vitamin D

(<https://www.shutterstock.com/search/d3+icon>)

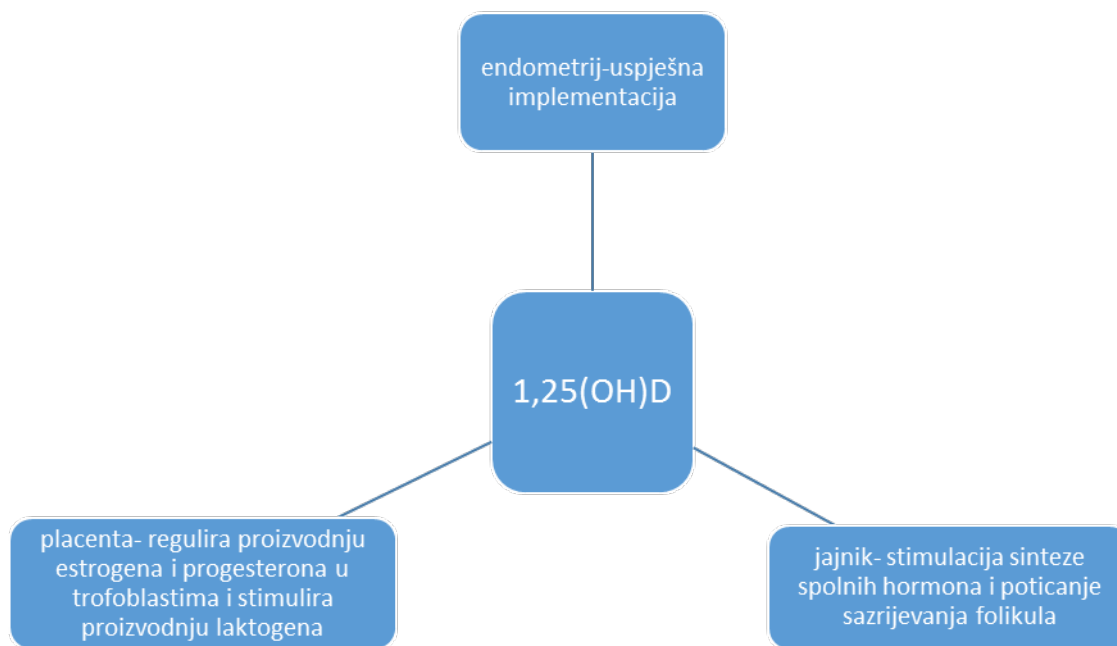
Postoji li veza između metabolizma vitamina D i patogeneze endometriozе proučavali su Kalaitzopoulos i suradnici (78) te proveli sustavni pregled studija. Dva su ispitivača neovisno pretražili dvije elektroničke baze podataka i pregledali identificiranu literaturu objavljenu od 1990. do 2019. Ključne riječi su bile: vitamin D, kalcitriol, endometriozа, 25(OH)D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, vitamin D vežući protein, receptor vitamina D. Ekstrahirali su podatke i procijenili rizik pristranosti uključenih studija. Kriteriji uključivanja u ovaj sustavni pregled bili su: a) studije koje su uspoređivale koncentraciju metabolita vitamina D, vitamin D vežućeg proteina, receptora vitamina D i enzima ključnih za njegov metabolizam između kontrolne i ispitivane skupine (isključene su studije sa suplementacijom); b) članci na svim jezicima; c) izvorni znanstveni članak (bez preglednih članaka i meta-analiza); d) ispitivanja na ljudima (isključene su *in vitro* i *in vivo* studije). Od 240 članaka koliko ih je identificirano u pretraživanju, 21 klinička studija je ispunjavala kriterije za uključivanje u ovaj pregled: 15 *case-control* studija te po dvije retrospektivne kohortne, prospektivne kohortne i presječne studije. Pronađene su tri studije koje povezuju ovu bolest i serumske razine kalcitriola. Jedna je pokazala povišene koncentracije tog metabolita u pacijentica s endometriozom u usporedbi s kontrolnom skupinom, dok druge dvije studije nisu potvrdile takav rezultat.

Slične rezultate donose studije s kalcidolom: u jednoj su ustanovljene niže razine u žena s endometriozom, u drugoj više razine istog metabolita, dok je treća pokazala da 87 % žena s endometriozom ima hipovitaminozu. Ostale studije također donose kontradiktorne podatke o vezi između razine metabolita vitamina D i endometrioze. Samo je jedna studija potvrdila da su razine receptora vitamina D u epitelnim i stromalnim stanicama žena s endometriozom više nego u zdravih ispitanica. Iz dostupnih podataka se ipak ne može izvući čvrst zaključak, pa je potrebno provesti nova ispitivanja da bi se razumjela prava uloga receptora vitamina D.

Osam studija bavilo se ispitivanjem koliko je snažan doprinos vitamin D vežućeg proteina (DVP) patogenezi endometrioze. Dvije studije izvijestile su o povišenoj koncentraciji DVP u urinu i serumu žena s endometriozom, dok je jedna pokazala više koncentracije u ektopičnom tkivu endometrija u odnosu na tkivo zdravog endometrija. Sljedeće tri studije s istim pitanjem nisu pronašle razliku između koncentracije DVP u serumu bolesnih i zdravih ispitanica. Provedene studije otkrile su da bi genotip vitamin D vežućeg proteina mogao biti važan u patofiziologiji endometrioze, iako su za sigurne zaključke potrebna daljnja ispitivanja. Objek studije koje su ispitivale razinu enzima ključnih za metabolizam vitamina D pronašle su više razine u endometrijskom tkivu bolesnica (78). Loša kvaliteta uključenih studija glavno je ograničenje ovog sustavnog pregleda. Broj ispitanica je bio mali, a kontrolna skupina nije bila sastavljena od opće populacije žena. Vrsta endometrioze u ispitanica koje su bile uključene u odabrane studije većinom nije bila jasno određena. Podaci o nekoliko parametara ključnih u metabolizmu vitamina D, kao što su rasa, narodnost, uporaba sredstva za zaštitu od sunca te dužina trajanja i učestalost aktivnosti na otvorenom bili su dostupni samo za ograničeni broj ispitanica. Jednako važno, rezultati svih studija ne mogu se usporediti zbog različitih metoda laboratorijskog mjerenja koncentracije vitamina D i vitamin D vežućeg proteina. Ovaj sustavni pregled prvi je koji ispituje specifičnu vezu vitamina D i endometrioze.



Zbog heterogenosti i različitosti u dostupnih studija, zaključeno je da su potrebna daljnja ispitivanja uloge vitamina D kod različitih vrsta endometrioze (površinske peritonealne lezije, endometrioma ili duboko infiltrirajuće). Premda postojeći podaci navode mogućnost da vitamin D može blagotvorno djelovati na plodnost žene, rezultati još uvijek nisu uvjerljivi. Žene reproduktivne dobi češće imaju manjak vitamina D, što može imati neželjene učinke ostvarivanje trudnoće. Neke studije navode kako je koncentracija vitamina D u direktnoj vezi s koncentracijom parametara koji pokazuju rezervu jajnika, posebno s anti-Müllerovim hormonom (AMH), što može značiti da je niža zaliha jajnih stanica u jajniku tijekom kasnog reproduktivnog doba povezana s manjkom vitamina D (79). Vitamin D je također bitan čimbenik za uspješnu trudnoću. Tkivo endometrija ima receptore i enzime za vitamin D koji ima važnu ulogu pri implantaciji jajne stanice, pa tako njegov manjak može dovesti do slabe implementacije te posljedično hipertenzije i usporenog rasta fetusa (80). Primijećeni su i drugi nepovoljni ishodi u trudnica s manjkom vitamina D, uključujući prijevremeni porod i gestacijski dijabetes. Slika 24 prikazuje ulogu vitamina D u ženskim reproduktivnim tkivima.



Slika 24. Uloga vitamina D u ženskim reproduktivnim tkivima (81)

Znanstvenici talijanskog medicinskog centra u Napulju željeli su „baciti novo svjetlo“ na plodnost žena, pa su 2017. godine analizirali dotadašnja objavljena istraživanja o ulozi vitamina D kod neplodnosti i koliki je njegov utjecaj na relevantne bolesti, poput sindroma policističnih jajnika i endometrioze, koje se najčešće dovode u vezu s ovom teškom dijagnozom. Pretpostavka je bila da manjak vitamina D može pridonijeti patogenezi endometrioze zbog izostanka imunomodulacijskih i protuupalnih svojstva ovog vitamina. Do 2017. godine nisu bila objavljena randomizirana klinička ispitivanja pa su u ovom sustavnom pregledu analizirana *in vivo* i *in vitro* ispitivanja, opservacijske i intervencijske studije. Analizirane studije imaju mali broj ispitanica i različite metodologije zbog čega dolazi do mnogih proturječnosti i nije moguće ocijeniti postoji li direktni učinak suplementacije vitamina D na plodnost žene (81).

U Americi je 2020. objavljena prva randomizirana, dvostruko slijepa klinička studija, kontrolirana placebom i s paralelnim skupinama, s ciljem potvrde hipoteze da postoji pozitivan učinak suplementacije vitamina D i omega-3 masnih kiselina na bol, učestalost uzimanja lijekova protiv bolova i kvalitetu života adolescentica i mladih žena s endometriozom. Endometrioza je upalno stanje karakterizirano povišenim razinama citokina i faktora rasta, smanjenom apoptozom stanica i povišenom angiogenezom, što sve vodi do jačeg osjećaja boli. Vitamin D bi mogao smanjiti proliferaciju upalnih faktora i pojačati apoptozu stanica, dok bi omega-3 masne kiseline mogle smanjiti faktore rasta i ograničiti preživljenje stanica ektopičnog endometrija, što bi moglo u konačnici rezultirati stagnacijom razvoja endometrioze. U ispitivanju je sudjelovalo 147 žena u dobi 12-25 godina kojima je kirurški dijagnosticirana endometrioza i koje su osjećale bolove u zdjelici (VAS > 3). Nodler i suradnici (82) koristili su višestruke parametre ispitivanja kao što su: vizualno-analognu ljestvicu za mjerenje intenziteta boli, upitnik za kvalitetu života SF12 (*Short form 12*), ljestvicu za katastrofiziranje boli PCS (*Pain Catastrophizing Scale*) te učestalost upotrebe lijekova protiv bolova.

Iz ispitivanja su bile isključene pacijentice s bubrežnim kamencima, kroničnim bolestima koje utječu na apsorpciju nutrijenata iz gastrointestinalnog trakta, kao i pacijentice s vrijednostima 25-hidroksikolekalciferola  $\geq 100$  ng/mL. Preostalih 69 pacijentica nasumično je podijeljeno u brojčano podjednake skupine. Jednom dnevno tijekom šest mjeseci prva je skupina uzimala 1000 mg ribljeg ulja, druga skupina 2000IU vitamina D<sub>3</sub>, a placebo skupina jednu placebo tabletu. Intenzitet boli mjereno je VAS-om sa stupnjevima od 1 (bez boli) do 10 (iznimno jaka bol), a klinički značajna bila je promjena na ljestvici  $\geq 1,6$  jedinica. SF12 upitnik uključuje fizičke i mentalne stavke koje se ocjenjuju na ljestvici od 0 (najniža kvaliteta života) do 100. Katastrofiziranje boli utječe na način na koji pojedinci doživljavaju bol, a definira se kao pretjerana negativna orijentacija prema osjećaju boli i bolnom iskustvu. PCS ljestvica za mjerenje katastrofiziranja ima bodovanje od 0 do 52 i sastoji se od triju komponenti - razmišljanja (npr. „Stalno mislim o tome koliko jako želim da bol prestane“), preuveličavanja (npr. „Pitam se bi li mi se moglo dogoditi nešto ozbiljnije“) i bespomoćnosti (npr. „Grozno je i mislim da mi nikada neće biti bolje“). Važan je prediktor intenziteta boli i načina na koji osobe podnose bol. Pacijentice su također izvještavale o ukupnom broju tableta protiv bolova koje su uzimale u vremenskim razdobljima od sedam dana. Svi parametri su izmjereni na početku ispitivanja te nakon tri i šest mjeseci. U sve tri skupine primijećeno je smanjenje intenziteta boli. Rezultati na VAS od početnog mjerenja do mjerenja nakon šest mjeseci smanjili su se u placebo skupini sa 6,0 na 4,4 jedinica ( $p = 0,07$ ), u skupini koja je dobivala vitamin D sa 7,0 na 5,5 ( $p = 0,02$ ) te u skupini koja je dobivala riblje ulje sa 5,9 na 5,2 ( $p = 0,39$ ). Vidljivo je da se statistički značajna promjena ( $p < 0,05$ ) dogodila samo u skupini koja je dobivala vitamin D<sub>3</sub>. Ipak, smanjenje intenziteta boli zabilježeno u ispitivanim skupinama nije se statistički značajno razlikovalo od istog parametra u placebo skupini.

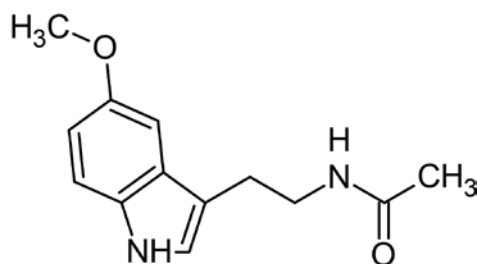
Izgledi za klinički značajnu promjenu na VAS ( $\geq 1,6$  jedinica) nakon šest mjeseci ispitivanja bili su također samo u skupini koja je uzimala vitamin D<sub>3</sub>. U promjenama fizičke i mentalne

kvalitete života nije bilo dosljednih uzoraka niti u jednoj skupini, niti je bilo statistički značajne razlike u poboljšanju kad bi međusobno usporedili ove skupine. Pacijentice su u sve tri skupine pokazale poboljšanje u rezultatima na PCS ljestvici, ali samo za vitamin D<sub>3</sub> sa statistički značajnim pomakom tijekom šest mjeseci ( $p = 0,04$ ). Nije bilo statistički značajne razlike između skupina niti u broju tableta protiv bolova uzetih tijekom tjedan dana. Ova studija pokazala je kako suplementacija vitaminom D<sub>3</sub> ili omega-3 masnim kiselinama tijekom šest mjeseci ne dovodi do klinički ili statistički značajne promjene intenziteta boli u adolescentica i mladih žena s endometriozom. Sve tri skupine pokazale su sličan trend poboljšanja rezultata. Potencijalno ograničenje ove studije je mali broj ispitanica jer autori navode mogućnost da bi veći broj mogao dovesti do značajnijih pomaka u smanjenju intenziteta boli u suplementiranim skupinama. Znanstvenici nisu bili u mogućnosti otkriti kako bi se polimorfizam gena vezanih za vitamin D mogao povezati sa suplementacijom, što je bilo dodatno ograničenje. U ovom ispitivanju pacijentice su imale dovoljne razine vitamina D, a postoji mogućnost da bi suplementacija imala snažniji učinak na populaciju s deficitom. S druge strane, velika prednost ove studije je njezin dizajn. Snažan placebo učinak očit je na više završnih mjerenja, iz čega možemo zaključiti da je samo sudjelovanje u studiji (a ne korištenje dodataka prehrani) osiguralo poboljšanje čak i nakon šest mjeseci (82).

#### **4.3.3. Melatonin**

Melatonin je hormon koji se prirodno proizvodi u hipofizi i strukturom je sličan serotoninu (slika 25). Sekrecija melatonina se fiziološki povećava ubrzo nakon što padne mrak, najviša je oko 2 sata ujutro te opada tijekom druge polovice noći. Melatonin je povezan s kontrolom cirkadijanog ritma, ciklusom izmjene svjetlosti i tame, hipnotičkim učinkom i pojačanom potrebom za snom. Zbog uloge koju ima u spavanju i regulaciji cirkadijanog ritma te zbog smanjenog stvaranja endogenog melatonina s povećanjem dobi, uzimanje ovog hormona može djelotvorno poboljšati kakvoću sna osobito u osoba s primarnom nesanicom starijih od 55

godina. Kao učinkovit izbor za ublažavanje simptoma endometrioze melatonin možemo razmotriti zbog njegovih analgetskih, antioksidacijskih i protuupalnih svojstava (83).



Slika 25. Melatonin

(<https://www.abcam.com/melatonin-endogenous-hormone-agonist-at-mt1-and-mt2-receptors-ab141052.html>)

Schwertner i suradnici (84) istraživali su 2012. godine u Brazilu kakav je učinak melatonina na kroničnu zdjeličnu bol uzrokovanu endometriozom. Proveli su randomizirano, dvostruko-slijepo ispitivanje II faze, kontrolirano placebo. U ispitivanje je bilo uključeno 40 žena (18 do 45 godina) randomiziranih u placebo (n = 20) ili melatonin skupinu (n = 20). Ispitanice u melatonin skupini svaki dan su prije spavanja uzimale 10 mg melatonina tijekom osam tjedana, a u placebo skupini placebo tabletu jednakih fizičkih obilježja. Primarni ishod bio je rezultat zbroja intenziteta zdjelične boli koji su pacijentice bilježile pomoću vizualno-analognih ljestvica, a dodatno su zapisivale upotrebu analgetika tijekom ispitivanja. Rezultati su pokazali da je u odnosu na placebo, primjenom melatonina, došlo do statistički značajno nižih kumulativnih vrijednosti intenziteta zdjelične boli ( $p < 0,001$ ), a srednja vrijednost razlike jačine boli prije i nakon ispitivanja bila je 39,30 %. Tijekom razdoblja ispitivanja 42,2 % pacijentica uzimalo je analgetike u placebo skupini, dok je taj postotak bio 22,9 % u melatonin skupini, i bio je statistički značajan. Ovakvi rezultati ukazuju da melatonin vjerojatno ima direktni učinak na putove prenošenja boli ili signalne molekule koje reguliraju bol (84). Dodatno, prethodna ispitivanja provedena na životinjama pokazala su pozitivne učinke ovog hormona na povlačenje lezija i njihovu atrofiju (85).

#### 4.3.4. Kombinirani pripravak

Godine 2017. talijanski znanstvenici (86) su ispitivali novu kombinaciju bioaktivnih prirodnih tvari koje bi u obliku dodatka prehrani mogle smanjiti upalni proces u žena s endometriozom, što bi moglo rezultirati ublažavanjem simptoma bolesti i štetnih učinaka na zahvaćene organe. Ispitivani dodatak prehrani u ovoj kohortnoj studiji sadržavao je 1434 mg omega-3 i 1728 mg omega-6 masnih kiselina, 200 mg kvercetina, 20 mg nikotinamida, 400 mg kalcijeve soli 5-metiltetrahidrofolata te 20 mg standardiziranog ekstrakta kurkume i 19,5 mg majčinskog vratića. Devedeset pacijentica s endometriozom podijeljeno je u tri podjednake skupine. Prva skupina dobivala je ispitivani dodatak prehrani, druga skupina kombinaciju lanenog ulja i kalcijeve soli 5-metiltetrahidrofolata, a treća (kontrolna skupina) placebo. Sve uključene pacijentice uzimale su dvije doze dnevno, svakih 12 sati tijekom tri mjeseca. Provodile su i posebni prehrambeni režim prema kojem su za najmanje 30 % smanjile unos mliječnih proizvoda, a za najmanje 50 % unos mesa, hrane koja sadrži gluten, kofein, alkohol, čokoladu, zasićene masne kiseline i margarin. Tijekom ispitivanja bila je zabranjena konzumacija soje, aloja i zobi. Učinci djelovanja na simptome poput intenziteta glavobolje, učestalosti cistitisa, bolova u mišićima ili fibromialgije, iritabilnog kolona, dismenoreje i dispareunije te kronične zdjelice boli mjerili su se pomoću vizualno-analogne ljestvice. Ispitanice su intenzitet svakog simptoma zabilježile na početku i na kraju ispitivanja. Na 21. dan ciklusa, prije i nakon ispitivanja, izmjereni su i laboratorijski parametri: serumska koncentracija 17 $\beta$ -estradiola, prostaglandina E2 i tumorskog markera CA-125. Nakon tretmana s ispitivanim dodatkom prehrani, došlo je do značajnog smanjenja intenziteta sljedećih simptoma: glavobolja sa 14 % na 4 %, cistitis sa 12 % na 2 %, bolovi u mišićima sa 4 % na 1 %, simptomi iritabilnog kolona sa 15 % na 6 %, dismenoreja sa 62 % na 18 %, dispareunija sa 30 % na 15 % i kronična bol u zdjelici sa 62 % na 18 %.

Laboratorijski parametri za prvu skupinu također su pokazivali značajno smanjenje vrijednosti serumskih koncentracija prostaglandina E2 s  $3404 \pm 346$  ng/L na  $1377 \pm 326$  ng/L i CA-125 sa  $61,4$  U/mL na  $38$  U/mL. Smanjila se i serumska koncentracija  $17\beta$ -estradiola, ali ne statistički značajno. Bitno je naglasiti da kontrolna skupina nije pokazala statistički značajno smanjenje niti jednog analiziranog parametra, dok je druga skupina pokazala konzistentno smanjenje razina prostaglandina E2 koje ipak nije bilo dovoljno da bi utjecalo na simptome. Analizom dobivenih podataka jasno je dokazan značajan utjecaj multikomponentnog dodatka prehrani na smanjenje boli u pacijentica s endometriozom. Značajno smanjenje razine prostaglandin E2 ukazuje na protuupalnu aktivnost sastavnica, koje djeluju oponašajući farmakološko djelovanje najčešće korištenih lijekova u liječenju simptoma endometrioze. Znanstvenici također naglašavaju sinergijsku aktivnost komponenti kombiniranog pripravka dokazanu izostankom željenih učinaka u placebo skupini i u skupini koja je dobivala samo kombinaciju kalcijeve soli 5-metiltetrahydrofolata i lanenog ulja. Svakako je potrebno provesti veće kliničke studije kako bi se procijenila prednost uzimanja ovakvog dodatka prehrani, samog ili kao dodatak na standardnu terapiju za ublažavanje simptoma endometrioze (86).

#### 4.4. TRADICIONALNA KINESKA MEDICINA

Tradicionalna kineska medicina (engl. *Traditional Chinese Medicine*, TCM) je jedan od drevnih medicinskih sustava koji se u Kini prakticira neprekidno već više od 3000 godina. Njezin razvoj tekao je usporedno s konvencionalnom medicinom koja pak nije imala utjecaj na taj bitni dio kineske povijesti, kulture i narodne baštine. Tradicionalni kineski liječnici usmjereni su na očuvanje zdravlja s jednakom važnošću kao i na liječenje bolesti (87).

Glavne značajke TCM-a su:

1. Holistički pogled: čovjek i priroda su nerazdvojiva cjelina. Organizam se gleda kao cjelina i ne liječi se samo pojedini organ.
2. Princip ravnoteže: dinamička ravnoteža tjelesnih funkcija bitna je za očuvanje zdravlja;
3. Individualnost: pomoću tradicionalnih metoda bolest se dijagnosticira kao određeni specifični sindrom, različit među pojedincima.
4. Važnost preventivnog liječenja: prilagodbom načina života na emocionalnom i fizičkom polju možemo očuvati zdravlje;
5. Jednostavnost: za uspješnu dijagnostiku i liječenje bitna je jednostavnost (87).

TCM sadrži tri teorije: Yin i Yang, teorija pet elemenata i teorija o Qi energiji i meridijanima. Temeljni element ove medicine je Qi koji se definira kao životna ili vitalna energija, oku nevidljiva, a zajedno s krvlju i tjelesnim tekućinama neprekidno kruži ljudskim tijelom i pokreće ga. Qi u tijelu protječe energetskim putovima (meridijanima) koji su povezani s glavnim organskim sustavima. Prema kineskoj medicini, narušeno zdravlje je posljedica smetnje u ovom protoku, odnosno viška ili manjka energije u određenom meridijanu. Duž meridijana smješteno je 365 akupunkturnih točaka, uglavnom između mišića i tetiva i oko zglobova, a to su mjesta nakupljanja Qi-a.



Djelovanjem na akupunkturne točke možemo doći do normalizacije Qi protoka i umanjenja neravnoteže i tako utjecati na rad organa i osjet boli u tijelu. Poseban dijagnostički koncept TCM-a je Zheng koji obuhvaća četiri temeljna dijagnostička postupka: pregled, slušanje i mirisanje, ispitivanje i palpacija.

Cilj Zheng koncepta je utvrditi sindrom bolesti na osnovi prikupljenih kliničkih znakova i simptoma bolesnika. Temelj fitoterapije u TCM-u višekomponentne su biljne formule. Smatra se da se kompleksni sindromi mogu učinkovito liječiti jedino primjenom više kombiniranih droga. Takav jedan recept (formula) je višekomponentna smjesa droga koja se sastavlja prema tradicionalnom hijerarhijskom principu i svaka droga ima određenu ulogu. Terapija je prilagođena složenim individualnim potrebama i simptomima određenog pacijenta (87).

Pretpostavlja se da endometriozna negativno utječe na ostvarivanje trudnoće jer potiče upalne procese u području abdomena i zdjelice, smanjuje kvalitetu folikula i prijemčivost (debljinu) endometrija, dovodi do nedovoljno kvalitetne ovulacije i pojačava čimbenike koji djeluju embriotoksično. Učestalost ove bolesti je blisko povezana s našom konstitucijom, okolišem u kojem živimo i životnim navikama. U Kini je generalno prihvaćeno da zastoj krvi ima ključnu ulogu u nastanku endometrioze, pa se važna strategija za pokretanje cirkulacije krvi sastoji od regulacije rada jetre (kineski „*Gan*“) i revitalizacije bubrega (kineski „*Shen*“). Za ovu strategiju bitan je redosljed pa prije ovulacije treba pokrenuti cirkulaciju krvi, a revitalizaciju bubrega bitno je učiniti nakon ovulacije (88).

Kineski znanstvenici procjenjivali su učinkovitost i sigurnost TCM u ostvarivanju trudnoće nakon laparoskopski dijagnosticirane endometrioze i uz simptom neplodnosti. Od 2014. do 2017. proveli su multicentričnu, randomiziranu, dvostruko slijepu, placebo kontroliranu studiju. Ukupno 202 pacijentice u dobi 29-32 godine sa simptomom neplodnosti zbog endometrioze, stagnacijom Qi i sindromom zastoja krvi podijeljeno je u dvije podjednake skupine. Ispitivana skupina je dobivala terapiju ovisno o fazi ciklusa.

Granule Huoxue Xiaoyi ispitanice su dobivale prije ovulacije kako bi se regulirao Qi, aktivirala cirkulacija krvi i umirujuće djelovalo na jetru. Huoxue Xiaoyi granule sastoje se od biljnih droga: Bupleuri radix (*Bupleurum falcatum* L.) 10 g, Cyperus (*Cyperus alternifolius* L.) 10 g, Salviae militiorrhizae radix (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 20 g, Curcumae rhizoma (*Curcuma longa* L.) 10 g i Paeoniae rubrae radix (*Paeonia lactiflora* Pall.) 10 g. Ovakav sastav osigurava pokretanje cirkulacije, umiruje jetru, omogućava širenje žila u endometriju, potiče njegov rast i prijemčivost.

Nakon ovulacije bilo je potrebno također umiriti jetru, regulirati Qi, revitalizirati bubrege i spriječiti pobačaj. Ispitivana skupina u te svrhe je dobivala granule Bushen Zhuyun, čiji sastav je: Bupleuri radix (*Bupleurum chinense* DC.) 10 g, Poria (sklerocij gljive *Poria cocos*) 15 g, Ligustrum lucidum (*Ligustrum vulgare* L.) 15 g, Eclipta (*Eclipta prostrata* L.) 15 g, Artactylodes rhizoma (*Atractylodes macrocephala* Koidz ) 15 g i Dipsaci radix (*Dispsacus asperoides* C.Y. ) 30 g. Granule koje djeluju nakon ovulacije pomažu održavanju trudnoće i štite embrij. Doziranje obje vrste granula je bilo dvije vrećice dvaput dnevno, jedan sat nakon obroka, u trajanju od šest mjeseci. Ispitivanje je prekinuto ako se u međuvremenu ostvarila trudnoća, a isto tako bilo je zabranjeno koristiti bilo koji lijek koji bi mogao utjecati na ovulaciju. Primarni ishod praćenja bila je klinička stopa ostvarenih trudnoća, dok su svaki mjesec transvaginalnim ultrazvukom mjereni sekundarni ishodi (razvoj folikula i prijemčivost endometrija). Prvi, treći i šesti ciklus obuhvatio je i određivanje razine hormona E<sub>2</sub>, FH, P i LH, metodom elektrokemiluminiscencije. Na kraju ispitivanja skupina koja je uzimala TCM formule imala je statistički značajno višu stopu kliničkih trudnoća nego kontrolna skupina ( $p < 0,05$ ). U ispitivanoj skupini bila je i značajno viša učestalost pojave dominantnih folikula i same ovulacije.

Razlika između ispitivane i kontrolne skupine u razini hormona kao ni debljini endometrija nije se pokazala statistički značajna. Zabilježene su blage nuspojave u obje skupine (prehlada,

mučnina, proljev, vaginalni svrbež), no učestalost nije bila statistički značajna. Autori studije zaključili su da simptome endometrioze treba liječiti biljnim drogama koje potiču plodnost, olakšavaju dismenoreju i ne ometaju prirodnu ovulaciju. Ova studija je pokazala da strategija aktivacije cirkulacije krvi pomoću regulacije rada jetre i revitalizacije funkcije bubrega može učinkovito poboljšati razvoj folikula i uspješnost trudnoće (88).

### *Akupunktura*

Važna sastavnica TCM je akupunktura, metoda koja ima značajnu ulogu u smanjivanju boli kao simptoma endometrioze. TCM drži da je glavna patogeneza endometrioze stagnacija krvi ili Qi u maternici. Akupunktura može poboljšati cirkulaciju krvi i Qi, a kad je protok Qi i krvi nesmetan, bol se može smanjiti. Osim toga, akupunktura djeluje povećavajući prag boli u ljudi, a čini se da aktivira analgetičke moždane mehanizme oslobađanjem neuro-humoralnih čimbenika. Na taj način počinju razni fiziološki i psihološki procesi: aktiviraju se endogeni silazni inhibitorni sustavi, deaktiviraju se područja mozga koja prenose signale povezane s boli, dolazi do interakcije između nociceptivnih impulsa i somato-visceralnih refleksa, a počinju i očekivanja ublažavanja simptoma (89).

Još jedna bitna uloga akupunktore je pomaganje imunosnom sustavu da aktivnije eliminira zloćudne stanice. Akupunkturna stimulacija povećava citotoksičnost NK stanica (stanica prirodnih ubojica) promicanjem unakrsne komunikacije između mreže neurotransmitera i imunosnog sustava. Učinak akupunktore u liječenju boli kao simptoma endometrioze vjerojatno je posredovan endokrinim i citokinskim promjenama, kao i protuupalnim i analgetskim učincima (89). Slika 26 prikazuje neke od akupunkturnih točaka.



Slika 26. Akupunkturne točke

(<https://towcesterclinic.co.uk/therapies/acupuncture-fertility/>)

U cilju ispitivanja učinkovitosti akupunkture na ublažavanje boli koju uzrokuje endometriozna proveden je vrlo mali broj randomiziranih, slijepih kliničkih studija. Godine 2016. je sustavno pregledano šest baza podataka kako bi se pronašli rezultati takvih ispitivanja. U pregled je uključeno deset studija u kojima je sudjelovalo 589 pacijentica. Glavni ishodi proučavani u izdvojenim studijama bili su promjene intenziteta boli, promjene razine tumorskog markera CA-125 u perifernoj krvi i stopa kliničke učinkovitosti. Analize podataka obavio je sveobuhvatni statistički softver za meta-analizu. Samo jedna pilot studija od deset uključenih koristila je placebo kontrolnu skupinu i „zasljepljivanje“ sudionika, ostale su koristile drugačije kontrole (lijekove ili biljne droge). Sve su studije imale mali broj uzoraka, 8-36 pacijentica po skupini. Jačinu boli odredile su pacijentice prije i nakon intervencije, birajući vrijednost na ljestvici od 0 (bez boli) do 10 (intenzivna bol). Srednja vrijednost razlike jačine boli prije i nakon provođenja tretmana akupunkturom između ispitivanih i kontrolnih skupina bila je 1,36 (interval pouzdanosti 1,01-1,72,  $p < 0,0001$ ). Akupunktura je imala pozitivan učinak na razine CA-125 u perifernoj krvi i stopu kliničke učinkovitosti.

Dosadašnja ispitivanja daju naslutiti da primjenom akupunkture možemo ublažiti simptom boli i smanjiti serumske razine CA-125, međutim, da bi potvrdili takve zaključke potrebno je provesti dodatna klinička slijepa ispitivanja s odgovarajućim kontrolnim skupinama i primjerenom veličinom uzorka (89).

S tom namjerom 2018. godine je objavljen protokol kliničkog ispitivanja koje će se u Kini provoditi u četiri faze. Cilj ispitivanja je potvrditi učinak i sigurnost akupunkture koja se u tradicionalnoj kineskoj medicini može koristiti za ublažavanje simptoma dismenoreje. Simptomi endometriozе otežavaju živote žena koje boluju od ove bolesti. Usprkos učinkovitosti koje ima kirurško odstranjenje lezija kao mjera olakšavanja simptoma, rizik povrata bolesti je prilično velik. Uz to, kineski stručnjaci smatraju kako zapadnjačka medicina ima svoja ograničenja zbog neželjenih učinaka i nedovoljne učinkovitosti. Ukupno 106 pacijentica koje zadovoljavaju kriterije dismenoreje uzrokovane endometriozom bit će nasumično i jednakomjerno podijeljeno u dvije skupine. Ispitivanu skupina podvrgnut će tretmanu akupunkture po točno određenim akupunkturnim točkama, dok će se kod kontrolne skupine akupunktura provesti na ne-akupunkturnim točkama. Studija će biti obuhvaćena tri menstrualna ciklusa u kojima će se provoditi akupunktura i još tri ciklusa nakon toga. Metoda određivanja primarnog ishoda mjerit će se na vizualno-analognoj ljestvici. Studija je sad u fazi pronalaženja potencijalnih ispitanica, a rezultati će dati odgovor o učinku i sigurnosti akupunkture u ublažavanju dismenoreje (90).

## 5. RASPRAVA

Endometriozna je bolest s mnogo lica i mogućih varijacija njezinih patofizioloških obilježja. Stanice endometrija koje rastu na ektopičnim mjestima slične su zdravom endometriju prisutnom unutar maternice te reagiraju na jednaki podražaj hormonima. Pretpostavlja se da estrogen stimulira razvoj i rast stanica endometrija na takvim mjestima izvan maternice. Patofiziologija endometrioze uključuje kompleksnu interakciju između ektopičnog tkiva endometrija i tkiva u peritonealnoj šupljini koje postaje „domaćin“. Kirurško uklanjanje lezija ili hormonski lijekovi najčešće podrazumijevaju mnoge neželjene nuspojave. Zbog ovih razloga bitno je ustanoviti poboljšanu strategiju postupanja s endometriozom. Molekularni mehanizmi kojima bolest napreduje uključuju upalu, staničnu proliferaciju, izmjenu receptora hormona te inaktivaciju apoptoze. Otkriće novog lijeka koji bi ublažio simptome ili izliječio endometriozu trebalo bi se bazirati na ispitivanjima kako utjecati na neki od ovih mehanizama. Zato se sve više ispitivanja usmjerava na bioaktivne biljne sastavnice i mikronutrijente kao moguć izbor za prirodno ublažavanje simptoma i bolesti, a s namjerom da se dostigne visoka učinkovitost bez neželjenih učinaka i očuva šansa za postizanje trudnoće.

U okviru ovog rada odabrano je deset studija koje su ispitivale mehanizam djelovanja bioaktivnih biljnih sastavnica na ublažavanje simptoma endometrioze. Više provedenih pretkliničkih studija ukazalo je na mehanizam djelovanja kurkumina koji podrazumijeva inhibiciju proliferacije stanica, poticanje apoptoze, smanjenje oksidacijskog stresa i protuupalno djelovanje. Jedna od obrađenih studija potvrđuje kako preventivno uzimanje kurkumina u dozama od 48 mg/kg značajno smanjuje veličinu novonastalih lezija u životinjskom modelu (43).

Provedene su kliničke studije s resveratrolom, međutim, dobiveni podaci nisu jednoznačni. U konačnici znanstvenici nisu potvrdili prvotno dokazan pozitivan učinak 40 mg resveratrola i oralnog kontraceptiva na ublažavanja bolova (47). Epigalokatehin-3-galat je prepoznat kao potencijalno učinkovita bioaktivna biljna supstanca te je u tijeku klinička studija nakon koje ćemo imati dokaze o djelotvornosti na stupanj intenziteta boli te kvalitetu života pacijentica s endometriozom (51). Krocin i genistein ispitivani su u *in vivo* studijama koje su pokazale da bioaktivna sastavnica šafrana može inhibirati rast endometriotičnih lezija, a genistein iz soje može modulirati estrogenske receptore te djelovati protuupalno. Biljni ekstrakti nisu dovoljno istraženi da bi se mogli donijeti zaključci o djelovanju kod endometrioze. Svega nekoliko prekliničkih studija ukazalo je na njihov mogući mehanizam djelovanja, pa se konopljika i vrkuta primjenjuju na temelju njihove dugotrajne tradicionalne upotrebe. Klinički je dokazano da ekstrakt kore primorskog bora u kombinaciji s oralnim kontraceptivima učinkovitije ublažava kroničnu zdjeličnu bol od samih kontraceptiva te da dugoročno uzimanje pknogenola smanjuje dismenoreju i bolove u zdjelici (67). Kliničke studije provedene na pripravcima kombiniranih antioksidansa nam donose statistički značajne rezultate, ali su niskog stupnja kvalitete dokaza. Mogu biti dobar temelj za daljnja ispitivanja jer pokazuju da takve kombinacije ipak mogu ublažiti bolove u zdjelici i dismenoreju (73). Ispitivanja provedena s vitaminom D proučavala su utjecaj njegove suplementacije na neplodnost i smanjenje bolova u žena s endometriozom. No, zbog nedostataka i ograničenja provedenih studija, ne može se govoriti o zadovoljavajućoj razini dokaza (81). Melatonin predstavlja također potencijalno dobar izbor zbog svog protuupalnog i analgetskog djelovanja. Dokazano je da u dozi od 10 mg smanjuje bol i potrebu za analgeticima kako bi se ublažili simptomi endometrioze (84).

Jedinstveni sustav tradicionalne kineske medicine prakticira se u teoriji i praksi već više od 3000 godina. Holistički pristup i princip uspostavljanja ravnoteže neke su od razlika od zapadnjačke medicine. Prema teorijama kineske medicine, zastoj krvi i neravnoteža protoka Qi, imaju ključnu ulogu u nastanku endometrioze. Pokretanje cirkulacije i vraćanje ravnoteže ciljevi su kliničkih studija pronađenih u literaturi. Ustanovljeno je da višekomponentne smjese biljnih droga učinkovito poboljšavaju razvoj folikula i osiguravaju uspješnost trudnoće (88). Akupunktura također daje pozitivne rezultate za koje se očekuje potvrda kliničkih studija koje su u tijeku (90).

U sklopu ovog specijalističkog rada pronađen je manji broj kliničkih studija dok prevladavaju studije na životinjama i istraživanja u uvjetima *in vitro*. Izdvojene kliničke studije najčešće su rađene na nedovoljnom broju ispitanika, ponekad nisu navedeni opisi randomizacijskih i slijepih protokola te nema dostatnih podataka o pripravku koji je ispitan. Dosadašnje spoznaje mogu biti podloga za daljnja klinička istraživanja koja trebaju biti dobro dizajnirana i trajati duže, te imati veći broj ispitanika.



## 6. ZAKLJUČCI

Bioaktivne biljne sastavnice i ekstrakti razmatrani u ovom radu pokazuju antiproliferativne, protuupalne, antiangiogenetske i antioksidacijske učinke u nekliničkim istraživanjima. No, postojeći klinički dokazi nedovoljno podupiru njihovu praktičnu primjenu za ublažavanje simptoma endometrioze. Najproučavanije bioaktivne biljne sastavnice su kurkumin, resveratrol, epigalokatehin-3-galat, genistein i krocin s dokazanim inhibicijskim djelovanjem u ispitivanjima na animalnim modelima inducirane endometrioze. Ustanovljeni mehanizmi djelovanja u uvjetima *in vitro* uključuju pleiotropne učinke na efektorske molekule: vaskularni endotelni čimbenik rasta, matriksne metaloproteinaze, estrogenski receptor  $\alpha$ , COX-2, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, kao i reaktivne kisikove spojeve.

Među mikronutrijentima najviše se ističe potencijal primjene alfa-lipoične kiseline (same ili u kombinaciji s N-acetilcisteinom), vitamina C i E te melatonina, za koje postoje i skromni klinički dokazi. Primjena metoda tradicionalne kineske medicine često se predlažu kao dobar izbor kod endometrioze jer se, primjerice, pokazalo da višekomponentni tradicionalni biljni lijekovi mogu povećati broj ostvarenih trudnoća u žena s endometriozom.

U zaključku, razina dostupnih dokaza o djelovanju bioaktivnih biljnih sastavnica i mikronutrijenata na ublažavanje simptoma endometrioze je vrlo niska. No, tradicionalna primjena i dosadašnje znanstvene spoznaje ukazuju na njihov veliki potencijal i ohrabruju daljnja klinička istraživanja.

## 7. LITERATURA

1. Greaves E, Temp J, Esnal-Zufiurre A, Mechsner S, Horne AW, Saunders PTK. Estradiol is a critical mediator of macrophage-nerve cross talk in peritoneal endometriosis. *Am J Pathol* 2015;185(8):2286–2297.
2. Johnson NP, Hummelshoj L, Adamson GD, Keckstein J, Taylor HS, Abrao MS i sur. World Endometriosis Society consensus on the classification of endometriosis. *Hum Reprod* 2017;32(2):315–324.
3. Lee S-Y, Koo Y-J, Lee D-H. Classification of endometriosis. *Yeungnam Univ J Med* 2021;38(1):10-18.
4. Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and infertility. A review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2012;39(4):535-549.
5. Kobayashi H, Kawahara N, Ogawa K, Yoshimoto C. A Relationship Between Endometriosis and obstetric complications. *Reprod Sci* 2020;27(3):771-778.
6. Ricci AG, Olivares CN, Bilotas MA, Bastón JI, Singla JJ, Meresman GF i sur. Natural therapies assessment for the treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2013;28(1):178-88.
7. Guo S-W, Martin DC. The perioperative period: a critical yet neglected time window for reducing the recurrence risk of endometriosis. *Hum Reprod* 2019;34(10):1858-1865.
8. Warren LA, Shih A, Renteira SM, Seckin T, Blau B, Simpfendorfer K i sur. Analysis of menstrual effluent: diagnostic potential for endometriosis. *Mol Med* 2018;24(1):1; doi: 10.1186/s10020-018-0009-6
9. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2012;98(3):511-519.
10. Laganà AS, Garzon S, Götte M, Viganò P, Franchi M, Ghezzi F i sur. The pathogenesis of endometriosis: Molecular and cell biology insights. *Int J Mol Sci* 20(22):5615; doi: 10.3390/ijms20225615.
11. Nnoaham KE, Webster P, Kumbang J, Kennedy SH, Zondervan KT. Is early age at menarche a risk factor for endometriosis? A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Fertil Steril* 2012;98(3):702-712.

12. Aarestrup J, Jensen BW, Ulrich LG, Hartwell D, Trabert B, Baker JL. Birth weight, childhood body mass index and height and risks of endometriosis and adenomyosis. *Ann Hum Biol* 2020;47(2):173-180.
13. Vitonis AF, Maruti SS, Hankinson SE, Hornstein MD, Missmer SA. Adolescent physical activity and endometriosis risk. *J Endometr* 2009;1(3-4):157-163.
14. Vitonis AF, Hankinson SE, Hornstein MD, Missmer SA. Adult physical activity and endometriosis risk. *Epidemiology* 2010;21(1):16-23.
15. Barbieri RL. Reproductive history and endometriosis among premenopausal women. *Obstet Gynecol* 2004;104(5):965-974.
16. Vercellini P, Eskenazi B, Consonni D, Somigliana E, Parazzini F, Abbiati A i sur. Oral contraceptives and risk of endometriosis: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011;17(2):159-170.
17. Yamamoto A, Harris HR, Vitonis AF, Chavarro JE, Missmer SA. A prospective cohort study of meat and fish consumption and endometriosis risk. *Am J Obstet Gynecol* 2018;219(2):178.; doi: 10.1016/j.ajog.2018.05.034.
18. Hemmert R, Schliep KC, Willis S, Peterson CM, Louis GB, Allen-Brady K, i sur. Modifiable lifestyle factors and risk for incident endometriosis. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2019;33(1):19-25.
19. Chiaffarino F, Bravi F, Cipriani S, Parazzini F, Ricci E, Viganò P i sur. Coffee and caffeine intake and risk of endometriosis: a meta-analysis. *Eur J Nutr* 2014;53(7):1573-1579.
20. Marino JL, Holt VL, Chen C, Davis S. Shift work, hCLOCK T3111C polymorphism, and endometriosis risk. *Epidemiology* 2008;19(3):477-484.
21. Marino JL, Holt VL, Chen C, Davis S. Lifetime occupational history and risk of endometriosis. *Scand J Work Environ Heal* 2009;35(3):233-240.
22. Sirohi D, Al Ramadhani R, Knibbs LD. Environmental exposures to endocrine disrupting chemicals (EDCs) and their role in endometriosis: A systematic literature review. *Rev Environ Health* 2021.36(1):101-115.

23. Machairiotis N, Stylianaki A, Dryllis G, Zarogoulidis P, Kouroutou P, Tsiamis N i sur. Extrapelvic endometriosis: A rare entity or an under diagnosed condition. *Diagn Pathol* 2013;8:194.; doi: 10.1186/1746-1596-8-194.
24. Parasar P, Ozcan P, Terry KL. Endometriosis: Epidemiology, diagnosis and clinical management. *Curr Obstet Gynecol Rep* 2017;6(1):34-41.
25. Hsu AL, Khachikyan I, Stratton P. Invasive and noninvasive methods for the diagnosis of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 2010;53(2):413-419.
26. Nisenblat V, Bossuyt PMM, Shaikh R, Farquhar C, Jordan V, Scheffers CS i sur. Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2016(5):CD012179.; doi: 10.1002/14651858.
27. Endometrioza. Dostupno na: <https://ivf.hr/hr/endometrioza>; Pristupljeno: 2. siječnja 2021.
28. Masuoka T, Fujita W, Taniguchi F, Brierley SM, Castro JoelCastro J, Maddern J i sur. Pain in endometriosis. *Front Cell Neurosc* 2020;14:590823.; doi: 10.3389/fncel.2020.590823.
29. Morotti M, Vincent K, Brawn J, Zondervan KT, Becker CM. Peripheral changes in endometriosis-associated pain. *Hum Reprod Update* 2014;20(5):717-736.
30. Marquardt RM, Kim TH, Shin JH, Jeong JW. Progesterone and estrogen signaling in the endometrium: What goes wrong in endometriosis? *Int J Mol Sci* 2019;20(15):3822.; doi: 10.3390/ijms20153822.
31. Tomassetti C, D'Hooghe T. Endometriosis and infertility: Insights into the causal link and management strategies. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*.2018;51:25-33.
32. Miller JA, Missmer SA, Vitonis AF, Sarda V, Laufer MR, DiVasta AD. Prevalence of migraines in adolescents with endometriosis. *Fertil Steril*.2018.;109(4):685–690.
33. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE Guidelines, Consensus Documents and Recommendations). Dostupno na: <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Endometriosis-guideline/Patient-version>. Pristupljeno: 24. veljače 2021.

34. Chen I, Veth VB, Choudhry AJ, Murji A, Zakhari A, Black AY, i sur. Pre- and postsurgical medical therapy for endometriosis surgery. *Cochrane database Syst Rev.* 2020;11(11):CD003678.doi: 10.1002/14651858.
35. Wattanayingcharoenchai R, Rattanasiri S, Charakorn C, Attia J, Thakkinstian A. Postoperative hormonal treatment for prevention of endometrioma recurrence after ovarian cystectomy: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG* 2021;128(1):25-35.
36. Zakhari A, Delpero E, Mckeown S, Tomlinson G, Bougie O, Murji A. Endometriosis recurrence following post-operative hormonal suppression: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2021;27(1):96-107.
37. The anti-inflammatory and elimination diet for adults living with endometriosis. Dostupno na: <https://www.slucare.edu/ob-gyn/center-for-endometriosis/endometriosis-diet-booklet.pdf>; Pristupljeno: 1. travnja 2021.
38. Marziali M, Venza M, Lazzaro S, Lazzaro A, Micossi C, Stolfi VM. Gluten-free diet: A new strategy for management of painful endometriosis related symptoms. *Minerva Chir* 2012;67(6):499-504.
39. Shanmugam MK, Rane G, Kanchi MM, Arfuso F, Chinnathambi A, Zayed ME i sur. The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules* 2015;20(2):2728-2769.
40. Zhang Y, Cao H, Yu Z, Peng H-Y, Zhang C. Curcumin inhibits endometriosis endometrial cells by reducing estradiol production. *Iran J Reprod Med* 2013;11(5):415-422.
41. Cao H, Wei YX, Zhou Q, Zhang Y, Guo XP, Zhang J. Inhibitory effect of curcumin in human endometriosis endometrial cells via downregulation of vascular endothelial growth factor. *Mol Med Rep* 2017;16(4):5611-5617.
42. Kim KH, Lee EN, Park JK, Lee JR, Kim JH, Choi HJ i sur. Curcumin attenuates TNF- $\alpha$ -induced expression of intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 and proinflammatory cytokines in human endometriotic stromal cells. *Phyther Res* 2012;26(7):1037-1047.
43. Snehasikta S, Sumit P. Curcumin arrests endometriosis by downregulation of matrix metalloproteinase-9 activity. *Indian J Biochem Biophys* 2009;46(1):59-65.

44. Ergenoğlu AM, Yenieli AÖ, Erbaş O, Aktuğ H, Yildirim N, Ulukuş M i sur. Regression of endometrial implants by resveratrol in an experimentally induced endometriosis model in rats. *Reprod Sci* 2013;20(10):1230-1236.
45. Harikumar KB, Aggarwal BB. Resveratrol: A multitargeted agent for age-associated chronic diseases. *Cell Cycle* 2008;7(8):1020-1035.
46. Amsterdam LL, Gentry W, Jobanputra S, Wolf M, Rubin SD, Bulun SE. Anastrozole and oral contraceptives: A novel treatment for endometriosis. *Fertil Steril* 2005;84(2):300-304.
47. Maia H, Haddad C, Pinheiro N, Casoy J. Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain. *Int J Womens Health* 2012;4(1):543-549.
48. da Silva DM, Gross LA, Neto E de PG, Lessey BA, Savaris RF. The use of resveratrol as an adjuvant treatment of pain in endometriosis: A randomized clinical trial. *J Endocr Soc* 2017;1(4):359-369.
49. Irina I, Mohame G. Biological activities and effects of food processing on flavonoids as phenolic antioxidants. U: Petre M. ur. *Advances in applied biotechnology*. InTech; 2012, str. 101-124.
50. Matsuzaki S, Darcha C. Antifibrotic properties of epigallocatechin-3-gallate in endometriosis. *Hum Reprod* 2014;29(8):1677-1687.
51. Green Tea Extract for endometriosis treatment. Dostupno na: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02832271>; Pristupljeno 11. ožujka 2021.
52. Liu Y, Qin X, Lu X. Crocin improves endometriosis by inhibiting cell proliferation and the release of inflammatory factors. *Biomed Pharmacother* 2018;106:1678-1685.
53. Pashirzad M, Shafiee M, Avan A, Ryzhikov M, Fiuji H, Bahreyni A i sur. Therapeutic potency of crocin in the treatment of inflammatory diseases: Current status and perspective. *J Cell Physiol* 2019; <https://doi.org/10.1002/jcp.28177>
54. Cederroth CR, Zimmermann C, Nef S. Soy, phytoestrogens and their impact on reproductive health. *Mol Cell Endocrinol* 2012;355(2):192-200.

55. Sutrisno S, Aprina H, Simanungkalit HM, Andriyani A, Barlianto W, Sujuti H, i sur. Genistein modulates the estrogen receptor and suppresses angiogenesis and inflammation in the murine model of peritoneal endometriosis. *J Tradit Complement* 2018;8(2):278-281.
56. Rafieian-Kopaei M, Movahedi M. Systematic Review of premenstrual, postmenstrual and infertility disorders of *Vitex agnus-castus*. *Electron Physician* 2017;9(1):3685-3689.
57. Seidlova-Wuttke D, Wuttke W. The premenstrual syndrome, premenstrual mastodynia, fibrocystic mastopathy and infertility have often common roots effects of extracts of chasteberry (*Vitex agnus-castus*) as a solution. *Reprod Endocrinol* 2019;(45):66-74.
58. Ilhan M, Gurağaç Dereli FT, Akkol EK. Novel drug targets with traditional herbal medicines for overcoming endometriosis. *Curr Drug Deliv* 2018;16(5):386-399.
59. Kuštrak D. Farmakognozija-Fitofarmacija. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb; 2005, str.522-529.
60. Amuthan A, Anandh S, Musharraf S, Agarwal N, Devi V, Shenoy RP i sur. Effect of Notchi kudineer (*Vitex negundo* aqueous extract) on surgically induced endometriosis in sprague dawley rats. *Int J Pharmacol Clin Sci* 2016;4(3):35-43.
61. Maleš Ž, Vilović T. Botanički podaci, kemijski sastav i djelovanje vrkute - *Alchemilla vulgaris* L. *Farm Glas* 2020;76(6):415-421.
62. Mikić A: Citotoksični učinak *Chelidonium majus*, *Alchemilla vulgaris* i *Polygonum aviculare* na različite stanične linije humanih karcinoma. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:784590.>; Pristupljeno: 21. lipnja 2021.
63. Demirel A, Bahadır Ö, Süntar I. Phytochemical analyses and effects of *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. and *Alchemilla persica* Rothm. in rat endometriosis model. *Arch Gynecol Obstet* 2015;292(3):619-628.
64. Schäfer A, Chovanová Z, Muchová J, Sumegová K, Liptáková A, Ďuračková Z i sur. Inhibition of COX-1 and COX-2 activity by plasma of human volunteers after ingestion of French maritime pine bark extract (Pycnogenol). *Biomed Pharmacother* 2006;60(1):5-9.
65. Maia H, Haddad C, Coelho G, Casoy J. Role of inflammation and aromatase expression in the eutopic endometrium and its relationship with the development of endometriosis. *Women's Health* 2012;8(6):647-658.

66. Maia H, Haddad C, Casoy J. Combining oral contraceptives with a natural nuclear factor-kappa B inhibitor for the treatment of endometriosis-related pain. *Int J Womens Health* 2014;6:35-39.
67. Kohama T, Herai K, Inoue M. Effect of French maritime pine bark extract on endometriosis as compared with leuprorelin acetate. *J Reprod Med* 2007;52(8):703-708.
68. Romm A, Burgess I, Winston D, Zick SM, Crawford AMQ. Conditions of the reproductive organs. U: *Botanical Medicine for Women's Health*. Elsevier Inc.; 2010, str. 211-255.
69. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Endometrioza. Dostupno na: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/ginekologija/endometrioza>; Pristupljeno: 13. rujna 2021.
70. Ibrahimasic K. Alpha lipoic acid and glycaemic control in diabetic neuropathies at type 2 diabetes treatment. *Med Arch* 2013;67(1):7-9.
71. Caruso S, Iraci Sareri M, Casella E, Ventura B, Fava V, Cianci A. Chronic pelvic pain, quality of life and sexual health of women treated with palmitoylethanolamide and  $\alpha$ -lipoic acid. *Minerva Ginecol* 2015;67(5):413-419.
72. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Review molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(1):6-20.
73. Lete I, Mendoza N, de la Viuda E, Carmona F. Effectiveness of an antioxidant preparation with N-acetyl cysteine, alpha lipoic acid and bromelain in the treatment of endometriosis-associated pelvic pain: LEAP study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;228:221-224.
74. Bourdel N, Alves J, Pickering G, Ramilo I, Roman H, Canis M. Systematic review of endometriosis pain assessment: How to choose a scale? *Hum Reprod Update* 2015;21(1):136-152.
75. Santanam N, Kavtaradze N, Murphy A, Dominguez C, Parthasarathy S. Antioxidant supplementation reduces endometriosis-related pelvic pain in humans. *Transl Res* 2013;161(3):189-195.
76. Amini L, Chekini R, Nateghi MR, Haghani H, Jamialahmadi T, Sathyapalan T i sur. The effect of combined vitamin c and vitamin e supplementation on oxidative stress markers in women with endometriosis: A randomized, triple-blind placebo-controlled clinical trial. *Pain Res Manag* 2021; Article ID 5529741; <https://doi.org/10.1155/2021/5529741>.



77. Amirinejad R, Shirvani-Farsani Z, Naghavi Gargari B, Sahraian MA, Mohammad Soltani B, Behmanesh M. Vitamin D changes expression of DNA repair genes in the patients with multiple sclerosis. *Gene* 2021;781:145488.; doi: 10.1016/j.gene.2021.145488.
78. Kalaitzopoulos DR, Lempesis IG, Athanasaki F, Schizas D, Samartzis EP, Kolibianakis EM i sur. Association between vitamin D and endometriosis: a systematic review. *Hormones (Athens)* 2020;19(2):109-121.
79. Merhi ZO, Seifer DB, Weedon J, Adeyemi O, Holman S, Anastos K i sur. Circulating vitamin D correlates with serum antimüllerian hormone levels in late-reproductive-aged women: Women's Interagency HIV Study. *Fertil Steril* 2012;98(1):228-234.
80. Baker AM, Haeri S, Camargo CA, Espinola JA, Stuebe AM. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(11):5105-5109.
81. Muscogiuri G, Altieri B, de Angelis C, Palomba S, Pivonello R, Colao A, i sur. Shedding new light on female fertility: The role of vitamin D. *Rev Endocr Metab Disord* 2017;18(3):273-283.
82. Nodler JL, Divasta AD, Vitonis AF, Karevicius S, Malsch M, Sarda V i sur. Supplementation with vitamin D or  $\omega$ -3 fatty acids in adolescent girls and young women with endometriosis (SAGE): A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2020;112(1):229-236.
83. Keshavarzi F, Mahmoudzadeh F, Brand S, Sadeghi Bahmani D, Akbari F, Khazaie H, i sur. Both melatonin and meloxicam improved sleep and pain in females with primary dysmenorrhea - results from a double-blind cross-over intervention pilot study. *Arch Womens Ment Health* 2018;21(6):601-609.
84. Schwertner A, Conceição Dos Santos CC, Costa GD, Deitos A, De Souza A, De Souza ICC i sur. Efficacy of melatonin in the treatment of endometriosis: A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain* 2013;154(6):874-881.
85. Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertil Steril* 2008;89(4):934-942.
86. Signorile PG, Viceconte R, Baldi A. Novel dietary supplement association reduces symptoms in endometriosis patients. *J Cell Physiol* 2018;233(8):5920-5925.

87. Beinfield H, Korngold E. Između neba i zemlje - vodič kroz tradicionalnu kinesku medicinu. Planetopija 2011, str. 269-301.
88. Zhao R-H, Liu Y, Lu D, Wu Y, Wang XY, Li W-L I sur. Chinese medicine sequential therapy improves pregnancy outcomes after surgery for endometriosis-associated infertility: A multicenter randomized double-blind placebo parallel controlled clinical trial. Chin J Integr Med 2020;26(2):92-29.
89. Xu Y, Zhao W, Li T, Zhao Y, Bu H, Song S. Effects of acupuncture for the treatment of endometriosis-related pain: A systematic review and meta-analysis. PLoS One 2017;12(10):e0186616.; doi: 10.1371/journal.pone.0186616.
90. Liang R, Li P, Peng X, Xu L, Fan P, Peng J, i sur. Efficacy of acupuncture on pelvic pain in patients with endometriosis: Study protocol for a randomized, single-blind, multi-center, placebo-controlled trial. Trials 2018;19(1):314.; doi: 10.1186/s13063-018-2684-6.

## **8. ŽIVOTOPIS**

### **OPĆI PODACI**

**Ime i prezime:** Petra Filipović Radošević

**Adresa:** Srebrnjak 31, 10000 Zagreb

**e-mail:** petrafilipovic@gmail.com

**Datum i mjesto rođenja:** 29. 11. 1982. Karlovac

### **OBRAZOVANJE**

2018. - danas. Poslijediplomski specijalistički studij „Fitofarmacija s dijetoterapijom“, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

2001. - 2007. Studij farmacije, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

1997. - 2001. Druga gimnazija, Križanićeva 4, Zagreb

### **RADNO ISKUSTVO**

2019. - danas. voditeljica ljekarničke jedinice u Gradskoj Ljekarni Zagreb

2013. - 2019. Ljekarnik, Gradska Ljekarna Zagreb

2008. - 2012. Stručno – komercijalni suradnik, Krka – farma d.o.o. Zagreb

2007. - 2008. Farmaceut pripravnik, Gradska Ljekarna Zagreb