



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ ΚΑΙ
ΟΡΜΟΝΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ
ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ
ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ**

**ΡΟΛΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ
ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ**

**ΑΡΗΣ ΜΠΕΧΛΙΟΥΛΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011

*«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»*

N. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2

Ημερομηνία αίτησης του κ Μπεχλιούλη Άρη: 20-5-2005

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 560^α/21-6-2005

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Μιχάλης Λάμπρος Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Καλανταρίδου Σοφία Επίκουρη Καθηγήτρια Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κατσούρας Χρήστος Λέκτορας Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 30-6-2005

«Επίδραση γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων στο καρδιαγγειακό σύστημα»

Ημερομηνία Ανασυγκρότησης Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής 677^α/9-2-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Μιχάλης Λάμπρος Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Καλανταρίδου Σοφία Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαιευτικής –Γυναικολογίας με έμφαση στη Γυναικολογική Ενδοκρινολογία Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωλέττη Θεόφιλο Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 721^α/11-10-2011

Γεωργίου Ιωάννης	Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής –Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γουδέβενος Ιωάννης	Καθηγητής Παθολογίας -Καρδιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μιχάλης Λάμπρος	Καθηγητής Καρδιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσατσούλης Αγαθοκλής	Καθηγητής Παθολογίας -Ενδοκρινολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Καλανταρίδου Σοφία	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαιευτικής – Γυναικολογίας με Έμφαση στη Γυναικολογική

Κωλέττης Θεόφιλος

Ενδοκρινολογία, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων

Νάκα Αικατερίνη

Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Ιατρικής
Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

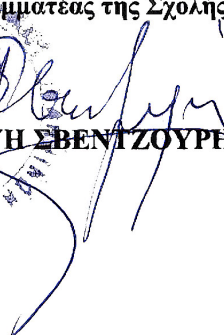
Επίκουρη Καθηγήτρια Καρδιολογίας, Ιατρικής
Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων


Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 9-11-2011

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Μαργαρίτα Τζαφλίδου

Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσικής

Η Γραμματέας της Σχολής

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΦΗ - ΖΩΗ



... στη σύζυγό μου Μαρία

... στο γιο μου Ορέστη

... στους γονείς μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την πρωταρχική αιτία θανάτου στο γυναικείο φύλο. Η επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι χαμηλή σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας σε σύγκριση με άντρες ίδιας ηλικίας και φαίνεται να αυξάνει ιδιαίτερος μετά την εμμηνόπαυση, γεγονός που υποστηρίζει την καρδιοπροστατευτική δράση των ενδογενών οιστρογόνων των οποίων τα επίπεδα μειώνονται στην εμμηνόπαυση. Ωστόσο, η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρότι φαίνεται να ασκεί πολλές αντι-αθηρογόνες δράσεις στα αγγεία, δεν έχει καταφέρει να πείσει για την αποτελεσματικότητά της στην καρδιαγγειακή πρόληψη σε αυτές τις γυναίκες. Απαντήσεις στα ερωτήματα σχετικά με την επίδραση της εμμηνόπαυσης και της ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης στον καρδιαγγειακό κίνδυνο προσπαθεί να δώσει και η παρούσα μελέτη. Βασική επιδίωξη ήταν να διαπιστωθούν οι ανεξάρτητες από την ηλικία επιδράσεις της μετάβασης στην εμμηνόπαυση σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής με σημαντικό ρόλο στην καρδιαγγειακή πρόγνωση, ενώ παράλληλα διερευνήθηκαν και οι δράσεις της ορμονικής θεραπείας στους δείκτες αυτούς. Η χρήση των νεότερων αυτών μη επεμβατικών δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής επιτρέπει την πρόωμη ανίχνευση της αθηρωματικής νόσου αρκετό καιρό πριν την εμφάνιση δομικών βλαβών στο αγγειακό τοίχωμα. Η επιλογή του πληθυσμού των εμμηνοπαυσιακών γυναικών και του θεραπευτικού σχήματος ορμονικής θεραπείας έγιναν με τέτοιο τρόπο ώστε να προσεγγίζουν όσο το δυνατόν καλύτερα το πραγματικό προφίλ των γυναικών που επισκέπτονται τα ιατρεία εμμηνόπαυσης στην καθημερινή κλινική πράξη, με σκοπό βέβαια τα αποτελέσματα της μελέτης να βοηθήσουν στην αντιμετώπιση των γυναικών αυτών.

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της διδακτορικής μου διατριβής υπό την επίβλεψη του κ. Λάμπρου Μιχάλη, Καθηγητή Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής. Οφείλω να τον ευχαριστήσω ιδιαίτερος για την πολύτιμη καθοδήγησή του και τη συνεχή υποστήριξη του καθόλη τη διαδρομή από τον αρχικό σχεδιασμό έως και την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Ωστόσο, με την επίβλεψη του Καθηγητή Λάμπρου Μιχάλη, η εκπόνηση αυτής της διατριβής δεν ήταν απλά μια ενασχόληση με ένα μικρό κομμάτι της ιατρικής γνώσης, αλλά

αποτέλεσε την αρχή για την ενασχόλησή μου με την ιατρική έρευνα έχοντας ως βασική αρχή τη λογική και αμερόληπτη εκτίμηση της γνώσης.

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τη βαθιά ευγνωμοσύνη μου στην κα. Σοφία Καλανταρίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαιευτικής και Γυναικολογίας της Ιατρικής Σχολής χωρίς τη συμβολή της οποίας δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Η ευρεία επιστημονική της γνώση, η μακρόχρονη ερευνητική εμπειρία αλλά και η απέραντη αισιοδοξία της μπροστά σε εμπόδια και δυσκολίες που αντιμετωπίστηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης αποτέλεσαν καθοριστικούς παράγοντες για τη συνέχιση και επιτυχία της ερευνητικής μας προσπάθειας.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, τον κ. Κατσούρα Χρήστο Επίκουρο Καθηγητή Καρδιολογίας στην Ιατρική Σχολή και τον κ. Κωλέττη Θεόφιλο Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιολογίας στην Ιατρική Σχολή για τις σημαντικές συμβουλές, τη συμπαράσταση και την άμεση ανταπόκριση κάθε φορά που χρειάζομαι τη βοήθειά τους.

Αισθάνομαι επίσης την ανάγκη να απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ προς την κα. Αικατερίνη Νάκα Επίκουρη Καθηγήτρια Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής, με την οποία είχα την τιμή να συνεργαστώ στενά και να αποκομίσω σημαντικά οφέλη για την πρόοδο της διατριβής μου. Η καθοδήγησή της σε βασικά σημεία της μεθοδολογίας, της συλλογής και ανάλυσης των δεδομένων αλλά και της ερμηνείας των αποτελεσμάτων ήταν πάντα απαραίτητη.

Τις θερμές μου ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στους κυρίους Οδυσέα Παπανικολάου και Απόστολο Καπόνη, ιατρούς της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου χωρίς τους οποίους θα ήταν αδύνατη η διαλογή του πληθυσμού της μελέτης. Τους ευχαριστώ για την υπομονή και την υποστήριξη που μου παρείχαν κατά την παρουσία μου στο Ιατρείο Εμμηνόπαυσης για περίπου 2 έτη.

Με την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας δεν θα μπορούσα να παραλείψω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους εκείνους που βοήθησαν σε τεχνικά/μεθοδολογικά θέματα που αφορούσαν την επεξεργασία και ανάλυση των δειγμάτων στα πλαίσια της μελέτης : την κα. Ανθή Χατζηκυριακίδου και τον κ. Ιωάννη Γεωργίου Καθηγητή Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής – Γυναικολογίας από τη Μονάδα Γενετικής της Μαιευτικής και Γυναικολογίας της Ιατρικής Σχολής, την κα.

Κωνσταντίνα Γκαρτζονίκα Λέκτορα Μικροβιολογίας και τον κ. Ανέστη Μαυρίδη Καθηγητή Μικροβιολογίας από το Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής και την κα. Πάτρα Βεζυράκη Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας και την κα. Βασιλική Καλφακάκου Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας από το Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής.

Ο ακαδημαϊκός κύκλος των ευχαριστιών μου δεν μπορεί να κλείσει χωρίς τους συναδέλφους και συνοδοιπόρους μου στην ερευνητική αυτή προσπάθεια από το Μιχαηλίδειο Καρδιολογικό Κέντρο της Ιατρικής Σχολής. Θα ήθελα λοιπόν να ευχαριστήσω τους φίλους και συνεργάτες μου κ. Κώστα Βακάλη, κ. Μιχαήλ Παπαφακλή και κα. Άννα Κότσια για την αμέριστη συμπαράσταση και βοήθεια που προσέφεραν όποτε και αν χρειαζόνταν καθώς και για τη δημιουργία ενός ευχάριστου κλίματος εργασίας.

Τέλος, ένα πολύ μεγάλο, βαθύ και θερμό ευχαριστώ οφείλω στους δικούς μου ανθρώπους, που χωρίς την αγάπη και τη συμπαράστασή τους, η εκπόνηση και η ολοκλήρωση της διατριβής μου δε θα ήταν ποτέ δυνατή : τη σύζυγο και το γιο μου, που αποτελούν πηγή έμπνευσης και κίνητρο για συνέχιση της ενασχόλησής μου με την έρευνα και την Ιατρική, και τους γονείς μου στους οποίους οφείλω 'το ζην και το ευ ζην'.

Άρης Μπεχλιούλης

Νοέμβριος 2011

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<u>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>	σελ. 1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	σελ. 3
Καρδιαγγειακά νοσήματα στις γυναίκες	
1.1 Εισαγωγή	σελ. 3
1.2 Επιδημιολογικά δεδομένα	σελ. 4
1.3 Φυλετικές διαφορές στους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και καρδιαγγειακά νοσήματα	σελ. 5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	σελ. 11
Αθηροσκλήρωση – Πρώιμη ανίχνευση αθηρωματικής νόσου	
2.1 Παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης	σελ. 11
2.2 Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και αθηροσκλήρωση	σελ. 15
2.2.1 Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή	σελ. 17
2.2.2 Ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας	σελ. 20
2.2.3 Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και κλινική πρόγνωση	σελ. 22
2.3 Αγγειακή φλεγμονή και αθηροσκλήρωση	σελ. 23
2.3.1 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη	σελ. 26
2.3.2 Διαλυτός συνδέτης μορίου CD40 (sCD40L)	σελ. 28
2.3.3 Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης	σελ. 30
2.4 Αρτηριακή σκληρία (arterial stiffness)	σελ. 34
2.5 Υποκλινική δομική αθηρωματική νόσος – Πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων (carotid intima-media thickness, IMT)	σελ. 37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	σελ. 41
Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακός κίνδυνος	
3.1 Ορισμοί	σελ. 41
3.2 Ενδοκρινολογικές μεταβολές κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση	σελ. 41
3.3 Κλινικές επιπτώσεις των φυσιολογικών αλλαγών κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση	σελ. 43
3.3.1 Αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα – Εξάψεις	σελ. 45
3.4 Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακός κίνδυνος	σελ. 48
3.4.1 Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακά νοσήματα	σελ. 48
3.4.2 Εμμηνόπαυση και αρτηριακή πίεση	σελ. 49

3.4.3 Εμμηνόπαυση και αύξηση σωματικού βάρους	σελ. 49
3.4.4 Εμμηνόπαυση και σακχαρώδης διαβήτης – αντίσταση στην ινσουλίνη	σελ. 50
3.4.5 Εμμηνόπαυση και λιπίδια	σελ. 51
3.4.6 Εμμηνόπαυση και μεταβολικό σύνδρομο	σελ. 52
3.4.7 Εμμηνόπαυση και αγγειακή φλεγμονή	σελ. 53
3.4.8 Εμμηνόπαυση και σύστημα πήξης/ινωδόλυσης αίματος	σελ. 53
3.4.9 Εμμηνόπαυση και αγγειακή λειτουργία - αθηροσκλήρωση	σελ. 54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	σελ. 57
Παραγωγή και δράσεις των ενδογενών οιστρογόνων	
4.1 Σχηματισμός, μεταφορά και μεταβολισμός των ενδογενών οιστρογόνων	σελ. 57
4.2 Μοριακές δράσεις των οιστρογόνων	σελ. 59
4.2.1 Κλασική οδός δράσης οιστρογόνων – Γενωμικές δράσεις οιστρογόνων	σελ. 60
4.2.2 Εναλλακτικές οδοί δράσης των οιστρογόνων – Μη γενωμικές δράσεις των οιστρογόνων	σελ. 62
4.3 Οιστρογόνα και καρδιαγγειακό σύστημα	σελ. 62
4.3.1 Γενωμικές δράσεις οιστρογόνων	σελ. 64
4.3.2 Μη γενωμικές δράσεις οιστρογόνων	σελ. 65
4.3.3 Οιστρογονικοί υποδοχείς και καρδιαγγειακό σύστημα	σελ. 66
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	σελ. 69
Ορμονική θεραπεία και καρδιαγγειακό σύστημα	
5.1 Εισαγωγή	σελ. 69
5.2 Οφέλη ορμονικής θεραπείας	σελ. 69
5.3 Κίνδυνοι από τη χρήση ορμονικής θεραπείας	σελ. 70
5.4 Ορμονική θεραπεία και αθηροσκλήρωση	σελ. 71
5.4.1 Χορήγηση οιστρογόνων και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου	σελ. 71
5.4.2 Άμεσες επιδράσεις οιστρογόνων σε υγιή αγγεία	σελ. 72
5.4.3 Επιβλαβείς επιδράσεις οιστρογόνων σε αθηρωματικά αγγεία	σελ. 75
5.5 Ορμονική θεραπεία και αγγειακή λειτουργία	σελ. 77
5.6 Ορμονική θεραπεία και καρδιαγγειακά νοσήματα	σελ. 78
5.6.1 Ορμονική θεραπεία και πρωτογενής καρδιαγγειακή πρόληψη	σελ. 80
5.6.2 Ορμονική θεραπεία και δευτερογενής καρδιαγγειακή πρόληψη	σελ. 81

5.7 Αντικρουόμενα αποτελέσματα ορμονικής θεραπείας στην καρδιαγγειακή πρόληψη	σελ. 82
5.7.1 Επιλογή χρόνου χορήγησης ορμονικής θεραπείας	σελ. 83
5.7.2 Τύπος, δοσολογία και οδός χορήγησης οιστρογόνων	σελ. 85
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	σελ. 89
Γενετικοί πολυμορφισμοί οιστρογονικών υποδοχέων και καρδιαγγειακό σύστημα	
6.1 Εισαγωγή	σελ. 89
6.2 Γενετικοί πολυμορφισμοί οιστρογονικού υποδοχέα α	σελ. 90
6.3 Γενετικοί πολυμορφισμοί οιστρογονικού υποδοχέα β	σελ. 93
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	σελ. 95
Σκοπός της μελέτης	
7.1 Σκοπός της μελέτης	σελ. 95
<u>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>	σελ. 97
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8	σελ. 99
Υλικό και Μέθοδοι	
8.1 Πληθυσμός μελέτης	σελ. 99
8.1.1 Γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης (N=120)	σελ. 99
8.1.2 Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24) – Ομάδα ελέγχου	σελ. 101
8.1.3 Κριτήρια αποκλεισμού	σελ. 101
8.2 Σχεδιασμός μελέτης	σελ. 103
8.2.1 Πρώτη υπομελέτη - Σύγκριση δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών	σελ. 104
8.2.2 Δεύτερη υπομελέτη (μελέτη παρέμβασης) - Επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης	σελ. 106
8.3 Υπερηχογραφική μελέτη αγγείων	σελ. 107
8.3.1 Εκτίμηση πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων	σελ. 109
8.3.2 Εκτίμηση ενδοθηλιακής λειτουργίας στη βραχιόνια αρτηρία	σελ. 110
8.3.3 Μετρήσεις και αποτελέσματα υπερηχογραφικής μελέτης αγγείων	σελ. 111
8.3.4 Μελέτη επαναληψιμότητας υπερηχογραφικής μελέτης αγγείων	σελ. 114

8.4 Ανάλυση γονοτύπων πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων	σελ. 115
8.5 Εργαστηριακές εξετάσεις	σελ. 116
8.6 Εκτίμηση εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων	σελ. 118
8.7 Στατιστική ανάλυση	σελ. 119
8.7.1 Υπομελέτη πρώτη	σελ. 120
8.7.2 Υπομελέτη δεύτερη	σελ. 121
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9	σελ. 123

Αποτελέσματα – Υπομελέτη 1

9.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά	σελ. 123
9.2 Μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι	σελ. 125
9.3 Υπερηχογραφικοί δείκτες αγγειακής λειτουργίας	σελ. 126
9.4 Δείκτες αγγειακής φλεγμονής	σελ. 128
9.5 Ανάλυση συσχετίσεων δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	σελ. 128
9.6 Ανάλυση συσχετίσεων γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων με κλινικές, μεταβολικές και αγγειακές παραμέτρους στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	σελ. 134
9.7 Στατιστικά μοντέλα πρόγνωσης των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ανάλυση παλινδρόμησης)	σελ. 141
9.8 Μεταβολές μεταβολικών και ορμονικών παραμέτρων και δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής ανάλογα με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	σελ. 144
9.9 Σύνοψη αποτελεσμάτων βασικής μελέτης	σελ. 148

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

Αποτελέσματα – Μελέτη παρέμβασης – Υπομελέτη 2

10.1 Γενικά	σελ. 151
10.2 Σύγκριση ομάδων εμμηνοπαυσιακών γυναικών πριν την έναρξη της ορμονικής θεραπείας	σελ. 151
10.3 Επανελέγχος εμμηνοπαυσιακών γυναικών που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία	σελ. 154
10.4 Επανελέγχος εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ορμονική θεραπεία	σελ. 156

10.5 Σύγκριση των αλλαγών σε μεταβολικές και ορμονικές παραμέτρους και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία	σελ. 158
10.6 Σύγκριση μεταβολικών και ορμονικών παραμέτρων και δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας	σελ. 160
10.7 Επίδραση γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων στις μεταβολές που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε κλινικές και μεταβολικές παραμέτρους και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής	σελ. 162
10.8 Στατιστικά μοντέλα πρόγνωσης των μεταβολών των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μετά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (ανάλυση παλινδρόμησης)	σελ. 163
10.9 Σύνοψη αποτελεσμάτων μελέτης παρέμβασης	σελ. 173
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11	σελ. 175
Συζήτηση – Συμπεράσματα	
11.1 Εμμηνόπαυση και Καρδιαγγειακός κίνδυνος	σελ. 175
11.2 Προγνωστικοί παράγοντες δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	σελ. 179
11.3 Επίδραση ορμονικής θεραπείας σε παράγοντες κινδύνου και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής	σελ. 183
11.4 Αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα και καρδιαγγειακός κίνδυνος	σελ. 189
11.5 Οιστρογονικοί υποδοχείς και καρδιαγγειακό σύστημα – Ρόλος των πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων	σελ. 192
11.6 Συμπεράσματα	σελ. 196
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ. 199
SUMMARY	σελ. 203
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	σελ. 209
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ – Δημοσιεύσεις σε περιοδικά και ανακοινώσεις σε συνέδρια	σελ. 261

ΓΕΝΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

Καρδιαγγειακά νοσήματα στις γυναίκες

1.1 Εισαγωγή

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την πρωταρχική αιτία νοσηρότητας και θνητότητας σε άντρες και γυναίκες. Σύμφωνα με τις αναφορές της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας στην Ευρώπη περίπου το 55% των θανάτων στις γυναίκες οφείλεται στα καρδιαγγειακά νοσήματα και κυρίως τη στεφανιαία νόσο και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια [1, 2] (Πίνακας 1.1). Δυστυχώς όμως, ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων στις γυναίκες φαίνεται να υποεκτιμάται εξαιτίας της αντίληψης ότι το γυναικείο φύλο προστατεύεται από την ανάπτυξη ισχαιμικής καρδιακής νόσου. Δεν έχει γίνει πλήρως αντιληπτό το γεγονός ότι οι γυναίκες μπορεί να παρουσιάζουν μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών συμβαμάτων κατά την αναπαραγωγική τους ηλικία αλλά μετά την εμμηνόπαυση η 'προστασία' των γυναικών εξαφανίζεται με αποτέλεσμα οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που παραμένουν χωρίς την κατάλληλη θεραπεία και να καθίστανται ευάλωτες στην ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων [2].

Πίνακας 1.1. Αιτίες θανάτου γυναικών στην Ευρωπαϊκή Ένωση [1]

Αιτίες θανάτου	Επίπτωση(%)
Στεφανιαία νόσος	24
Εγκεφαλικό αγγειακό επεισόδιο	18
Άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα	15
Καρκίνος	
Μαστού	3
Πνεύμονα	2
Εντέρου	2
Στομάχου	1
Άλλοι	9
Νοσήματα αναπνευστικού	6
Τραύματα και δηλητηριάσεις	4
Άλλα	16

1.2 Επιδημιολογικά δεδομένα

Η επιδημιολογία, η συμπτωματολογία και η εξέλιξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων φαίνεται να είναι διαφορετική μεταξύ των αντρών και των γυναικών. Στην Ευρώπη τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι υπεύθυνα για το 43% των θανάτων στους άντρες και το 55% στις γυναίκες. Πιο αναλυτικά, η στεφανιαία νόσος είναι υπεύθυνη για το 23% των θανάτων στις γυναίκες έναντι του 21% στους άντρες, τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια για το 18% των θανάτων στις γυναίκες έναντι του 11% στους άντρες ενώ τα λοιπά καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονται για το 15% των θανάτων στις γυναίκες έναντι του 11% στους άντρες. Σε αντιπαράθεση αναφέρεται ότι ο καρκίνος του μαστού είναι υπεύθυνος μόλις για το 3% των θανάτων στις γυναίκες [2]. Παρά το γεγονός ότι η ενημέρωση των γυναικών για τα καρδιαγγειακά νοσήματα και τη συνοδό θνητότητα αυξάνεται, μόνο ένα μικρό ποσοστό των γυναικών φαίνεται να πείθεται τελικά ότι αποτελούν τη μεγαλύτερη απειλή για την υγεία τους [3]. Αντιθέτως, ενώ ο καρκίνος του μαστού είναι υπεύθυνος για το 1/10 των θανάτων που οφείλονται στα καρδιαγγειακά νοσήματα, συχνά θεωρείται ως η πρωταρχική αιτία θανάτου στις γυναίκες.

Έχει αποδειχθεί ξεκάθαρα ότι ο επιπολασμός και η επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων σε άντρες και γυναίκες αυξάνεται με την ηλικία. Καθώς λοιπόν, το προσδόκιμο επιβίωσης αυξάνεται ιδιαίτερος στις γυναίκες, είναι αναμενόμενο να αυξάνεται και το ποσοστό των γυναικών που εμφανίζουν καρδιαγγειακά νοσήματα [4]. Είναι γνωστό επίσης ότι οι γυναίκες αναπτύσσουν καρδιαγγειακά νοσήματα περίπου 10 έτη αργότερα σε σχέση με τους άντρες [5]. Παρά το γεγονός ότι τα καρδιαγγειακά συμβάματα είναι σπάνια σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η επίπτωσή τους αυξάνεται ιδιαίτερα μετά την ηλικία των 45–54 ετών, δηλαδή μετά την εμμηνόπαυση [1], και εξισώνεται με αυτή των αντρών μέχρι την όγδοη δεκαετία της ζωής [6, 7]. Επιπλέον παρά το γεγονός ότι παρατηρείται μια ενθαρρυντική μείωση της καρδιαγγειακής θνητότητας στους άντρες, δυστυχώς στις γυναίκες η μείωση αυτή είναι μικρότερη συγκριτικά με των αντρών [8].

1.3 Φυλετικές διαφορές στους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και καρδιαγγειακά νοσήματα

Ο επιπολασμός των παραγόντων καρδιαγγειακών κινδύνου εξακολουθεί να είναι αρκετά υψηλός σε άντρες και γυναίκες παρά την προσπάθεια που παρατηρείται στο χώρο της πρωτογενούς και δευτερογενούς καρδιαγγειακής πρόληψης [2]. Οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου ως γνωστόν ταξινομούνται σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους (Πίνακας 1.2). Το φύλο μαζί με την ηλικία και το οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι οι τρεις βασικοί μη τροποποιήσιμοι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Η ηλικία είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου και για τα δυο φύλα, παρότι οι γυναίκες αναπτύσσουν καρδιαγγειακά νοσήματα σε ηλικία κατά μέσο όρο 10 έτη μεγαλύτερη από τους άντρες [4]. Η διαφορά αυτή σχετίζεται πιθανόν με τις ορμονικές μεταβολές που παρατηρούνται στις γυναίκες κατά την εμμηνόπαυση. Επιπλέον υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ αντρών και γυναικών στον επιπολασμό των διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου ανάλογα με την ηλικία [2, 9]. Τέλος, οι γυναίκες σε σχέση με τους άντρες εμφανίζουν πιο συχνά υπέρταση, ενώ οι άντρες έχουν πιο συχνά δυσλιπιδαιμία, ιστορικό καπνίσματος και κακές υγιεινο-διαιτητικές συνήθειες. Δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά στην επίπτωση σακχαρώδη διαβήτη και κεντρικής παχυσαρκίας μεταξύ αντρών και γυναικών [9].

Πίνακας 1.2. Παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου

<i>Μη τροποποιήσιμοι</i>	<i>Τροποποιήσιμοι</i>
Ηλικία	Υπέρταση*
Φύλο	Δυσλιπιδαιμία*
Κληρονομικότητα	Παχυσαρκία*
	Δυσανεξία γλυκόζης*
	Κάπνισμα
	Σακχαρώδης διαβήτης
	Καθιστική ζωή

*Συστατικά του Μεταβολικού συνδρόμου

Το κάπνισμα είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων τόσο σε γυναίκες όσο και στους άντρες. Ενώ ο επιπολασμός του καπνίσματος εξακολουθεί να είναι υψηλότερος στους άντρες σε σχέση με τις γυναίκες, η μείωση του καπνίσματος στις γυναίκες είναι λιγότερο εμφανής από ότι στους άντρες [2, 9] με συνέπεια να θεωρείται πιθανό ότι στα επόμενα χρόνια οι γυναίκες θα ξεπεράσουν τους άντρες στις καπνιστικές συνήθειες. Οι κίνδυνοι που σχετίζονται με το κάπνισμα (είτε ως παρούσα ή ως συσσωρευμένη χρήση καπνού) εξακολουθούν να είναι μεγαλύτεροι στους άντρες ανεξάρτητα από την ηλικία [9]. Ωστόσο, στις γυναίκες το κάπνισμα θεωρείται ότι

είναι η πιο σημαντική αιτία εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε ηλικία <50 ετών [10] και είναι υπεύθυνο για την πρώιμη εμφάνιση εμφράγματος μυοκαρδίου κατά περίπου 14 χρόνια από την αναμενόμενη ηλικία [11]. Υπάρχει μάλιστα μια δόσο-εξαρτώμενη σχέση μεταξύ καπνίσματος και κινδύνου εμφράγματος μυοκαρδίου καθώς ακόμη και 1-5 τσιγάρα την ημέρα προκαλούν αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου [12, 13]. Η συνδυασμένη χρήση ορμονικών σκευασμάτων (αντισυλληπτικά σκευάσματα ή ορμονική θεραπεία υποκατάστασης) και καπνού αυξάνει ιδιαίτερω τον κίνδυνο θρομβογένεσης και τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων κυρίως σε ηλικίες >35 ετών [14]. Η έκθεση σε παθητικό κάπνισμα είναι επίσης ένας παράγοντας κινδύνου ο οποίος αυξάνει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου κατά 24 % σε γυναίκες [15].

Η αρτηριακή υπέρταση, η οποία αποτελεί έναν ισχυρό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου, παρουσιάζει αύξηση του επιπολασμού στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση [16]. Περισσότερες γυναίκες από ότι άντρες αναπτύσσουν υπέρταση με την πρόοδο της ηλικίας, κυρίως μετά την ηλικία των 45 ετών [3], ενώ η μεμονωμένη συστολική υπέρταση είναι η πιο συχνή μορφή υπέρτασης σε ηλικιωμένες γυναίκες [17]. Στις ηλικίες 40–69 ετών κάθε αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης κατά 20 mmHg συνδυάζεται με διπλασιασμό των θανάτων από αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, ισχαιμική νόσο μυοκαρδίου και άλλα αγγειακά νοσήματα [18]. Η υπέρταση φαίνεται μάλιστα να σχετίζεται και με μεγαλύτερο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου στις γυναίκες σε σχέση με τους άντρες [9]. Ο έλεγχος της υπέρτασης έχει δείξει ότι μειώνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων και στα δυο φύλα [19, 20].

Τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης ορού αποτελούν σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση εμφράγματος μυοκαρδίου σε άντρες και γυναίκες με σχετικό κίνδυνο ο οποίος αυξάνεται με την πρόοδο της ηλικίας και είναι παρόμοιος και για τα δυο φύλα [21]. Τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης στις γυναίκες φτάνουν τις υψηλότερες τιμές μεταξύ 55 και 65 ετών περίπου μια δεκαετία μετά από τους άντρες [22]. Παρά το γεγονός ότι η προγνωστική αξία των επιπέδων χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (low density lipoprotein cholesterol, *LDL-c*) για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι μικρότερη στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άντρες [23], η μείωση των επιπέδων χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών αποτελεί τον πρωταρχικό στόχο στην καρδιαγγειακή πρόληψη καθώς σχετίζεται άμεσα με μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου τόσο σε άντρες όσο και γυναίκες [24]. Ωστόσο υπάρχει ένα μεγαλύτερο ποσοστό γυναικών με υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με άντρες που δεν θεραπεύονται αποτε-

λεσματικά και δεν επιτυγχάνουν τα επίπεδα στόχους, όπως αυτά καθορίζονται από τις κατευθυντήριες οδηγίες [25]. Τα επίπεδα της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (high density lipoprotein cholesterol, *HDL-c*) έχειδειχτεί ότι σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με την επίπτωση καρδιαγγειακών νοσημάτων σε νέους άντρες και σε γυναίκες όλων των ηλικιών [26] αλλά η προγνωστική τους αξία για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων φαίνεται να είναι υψηλότερη στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άντρες [27]. Για κάθε 1 mg/dl αύξηση των επιπέδων της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης παρατηρείται μείωση της επίπτωσης καρδιαγγειακών νοσημάτων κατά 3.0–4.7 % σε γυναίκες και 2.0–3.7 % σε άντρες [28]. Τέλος, στις γυναίκες τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων σχετίζονται με σημαντικά μεγαλύτερο καρδιαγγειακό κίνδυνο από ότι στους άντρες [21]. Η λιποπρωτεΐνη α (lipoprotein a, *Lp(a)*), η οποία παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με το πλασμινογόνο, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε γυναίκες ανεξάρτητα από τα επίπεδα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης [29].

Ο σακχαρώδης διαβήτης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε άντρες και γυναίκες. Στη μελέτη EUROASPIRE σε περίπου 4500 ασθενείς με στεφανιαία νόσο ο επιπολασμός του νεοδιαγνωσθέντος διαβήτη ή της διαταραχής γλυκόζης νηστείας ήταν παρόμοιος σε άντρες και γυναίκες [30], αλλά ο σχετικός κίνδυνος θανάτου από στεφανιαία νόσο και μη θανατηφόρου εμφράγματος μυοκαρδίου από το διαβήτη ήταν μεγαλύτερος στις γυναίκες [9, 31]. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 22 μελετών έδειξε ότι ο σχετικός κίνδυνος θανατηφόρας στεφανιαίας νόσου που σχετίζονταν με το διαβήτη ήταν 50% υψηλότερος στις γυναίκες [31].

Η παχυσαρκία αποτελεί έναν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα κινδύνου θανάτου από καρδιαγγειακά νοσήματα με τον σχετικό κίνδυνο να αυξάνεται παράλληλα με την αύξηση του δείκτη μάζας σώματος (body mass index, *BMI*) [32]. Η μελέτη EUROASPIRE έδειξε ότι η παχυσαρκία γενικώς αλλά και η κεντρική παχυσαρκία (περίμετρος μέσης >88 cm στις γυναίκες και >102 cm στους άντρες) είναι πιο συχνές στις γυναίκες (70%) από ότι στους άντρες (46%) με στεφανιαία νόσο [33]. Ακόμη και μια μέτρια αύξηση βάρους κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο θανάτου σε γυναίκες ανεξάρτητα από τη φυσική άσκηση [34]. Η έλλειψη φυσικής άσκησης και η καθιστική ζωή είναι αρκετά συχνά στις γυναίκες [35] και σχετίζονται τόσο με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων άμεσα όσο και με την επιδείνωση της παχυσαρκίας [1]. Η μειωμένη φυσι-

κή δραστηριότητα σχετίζεται επίσης με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης μη θανατηφόρου εμφράγματος μυοκαρδίου στις γυναίκες σε σχέση με τους άντρες [9].

Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί μια συνάθροιση παραγόντων κινδύνου της αθηρωματικής νόσου και του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και περιλαμβάνει την κεντρική παχυσαρκία, τη διαταραχή ρύθμισης του μεταβολισμού της γλυκόζης, τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων, τα μειωμένα επίπεδα χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών και την παρουσία υπέρτασης. Η συνύπαρξη τριών ή περισσότερων από αυτούς τους παράγοντες οδηγεί στη διάγνωση του συνδρόμου και σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης διαβήτη και εμφάνισης στεφανιαίας νόσου καθώς και αυξημένη καρδιαγγειακή θνητότητα [25, 36]. Στη μελέτη EUROASPIRE, ανάλογα με τον ορισμό του μεταβολικού συνδρόμου που χρησιμοποιούνταν, το 56–72 % των γυναικών έναντι του 40–59 % των αντρών με στεφανιαία νόσο είχαν μεταβολικό σύνδρομο. Χαρακτηριστικό ήταν το γεγονός ότι η ύπαρξη του μεταβολικού συνδρόμου στις γυναίκες σχετιζόταν με αυξημένη επίπτωση κεντρικής παχυσαρκίας και χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών σε σχέση με τους άντρες [33].

Η επίδραση των παραδοσιακών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως φαίνεται μέσα από την ανασκόπηση των ευρημάτων μεγάλων μελετών, θεωρείται ότι υποεκτιμά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε γυναικείους πληθυσμούς [7]. Έχειδειχτεί ότι η χρήση νεότερων δεικτών κινδύνου (π.χ. δείκτες φλεγμονής, ασβέστιο στεφανιαίων αγγείων) μπορεί να βοηθήσει στη βελτίωση της εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου κυρίως σε γυναίκες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (high sensitivity C-reactive protein, *hsCRP*) η οποία παρέχει σημαντικές προγνωστικές πληροφορίες για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου [37]. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ανεξάρτητα από τη λήψη ορμονικής θεραπείας και την παρουσία άλλων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, επίπεδα υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης >3 mg/l σχετίζονται με διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων [38]. Άλλοι δείκτες όπως τα χαμηλά επίπεδα αιμοσφαιρίνης (<12 g/dl) έχουν συσχετιστεί με αυξημένη θνητότητα και επίπτωση μη θανατηφόρων καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε γυναίκες με υποψία υποκείμενης μυοκαρδιακής ισχαιμίας [39]. Τέλος, έχει προταθεί ότι η ανίχνευση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, ακόμα και χωρίς την παρουσία εμφανών δομικών αγγειακών βλαβών, σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άντρες [40].

Διαφορές μεταξύ των δυο φύλων υπάρχουν και στην κλινική εκδήλωση και πρόγνωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Έχει παρατηρηθεί ότι σε γυναίκες με στηθαγγική συμπτωματολογία είναι λιγότερο συχνή η ανάδειξη αποφρακτικών βλαβών της στεφανιαίας κυκλοφορίας σε σύγκριση με τους άντρες [41, 42]. Οι γυναίκες εμφανίζουν πιο συχνά άτυπες κλινικές εκδηλώσεις στεφανιαίας νόσου [43], ενώ πολύ συχνά η ισχαιμία μπορεί να είναι ‘σιωπηλή’ και να διαδράμει υποκλινικά [44, 45]. Επιπλέον, οι γυναίκες παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο θανάτου από καρδιακή ανακοπή προνοσοκομειακά (52 % έναντι 42 % των θανάτων σε σύγκριση με τους άντρες) [7]. Ταυτόχρονα, γυναίκες με σταθερή στηθάγχη και αγγειογραφικά αποδεδειγμένη στεφανιαία νόσο παρουσίαζαν υψηλότερο σε σχέση με τους άντρες κίνδυνο καρδιαγγειακού θανάτου και μη θανατηφόρου εμφράγματος του μυοκαρδίου ανεξάρτητα από την ηλικία ή την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου [46]. Τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα στις γυναίκες εμφανίζονται πιο συχνά σε μεγαλύτερη ηλικία από ότι στους άντρες και σε συνδυασμό με την παρουσία πολλών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [47] ενώ είναι πιο πιθανό να εμφανιστούν ως ασταθή στηθάγχη παρά ως έμφραγμα μυοκαρδίου με ανύψωση του ST διαστήματος σε ηλικίες <65 ετών [48]. Σε γυναίκες >65 ετών οι διαφορές στην κλινική εμφάνιση των οξέων στεφανιαίων επεισοδίων εξαφανίζονται [48] ενώ αυξάνεται η πιθανότητα εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας που σχετίζεται με αυξημένη ενδονοσοκομειακή θνητότητα [49] σε σύγκριση με άντρες ίδιας ηλικίας. Τέλος, η πρόγνωση των αγγειακών εγκεφαλικών στις γυναίκες είναι χειρότερη γεγονός το οποίο συνδέεται και με την μεγαλύτερη επίπτωση κολπικής μαρμαρυγής στις γυναίκες [50, 51].

Οι διαφορές στην πρόγνωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων μεταξύ γυναικών και αντρών έχουν αποδοθεί κατά καιρούς στα διάφορα συνυπάρχοντα νοσήματα, τη διαφορετική βαρύτητα των εμφραγμάτων καθώς και τις διαφορές στην αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων μεταξύ των δυο φύλων. Γενικά στις μελέτες παρατηρείται ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα υποεκτιμώνται ως πρόβλημα υγείας στις γυναίκες. Είναι σημαντικό στην πρωτογενή καρδιαγγειακή πρόληψη να ακολουθείται επιθετική στρατηγική στην αναγνώριση και αντιμετώπιση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [1]. Επιπλέον πρέπει να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι οι γυναίκες υποβάλλονται λιγότερο συχνά από ότι οι άντρες στις απαραίτητες διαγνωστικές δοκιμασίες καρδιαγγειακών νοσημάτων (π.χ. δοκιμασία κόπωσης, στεφανιογραφία) ενώ και οι διάφορες διαγνωστικές δοκιμασίες καθαυτές εμφανίζουν διαφορετική διαγνωστική ικανότητα στις γυναίκες σε σχέση με τους ά-

ντρες. Η χορήγηση θεραπείας δευτερογενούς καρδιαγγειακής πρόληψης και η επαναγγείωση επίσης υποχρησιμοποιούνται στις γυναίκες [52].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

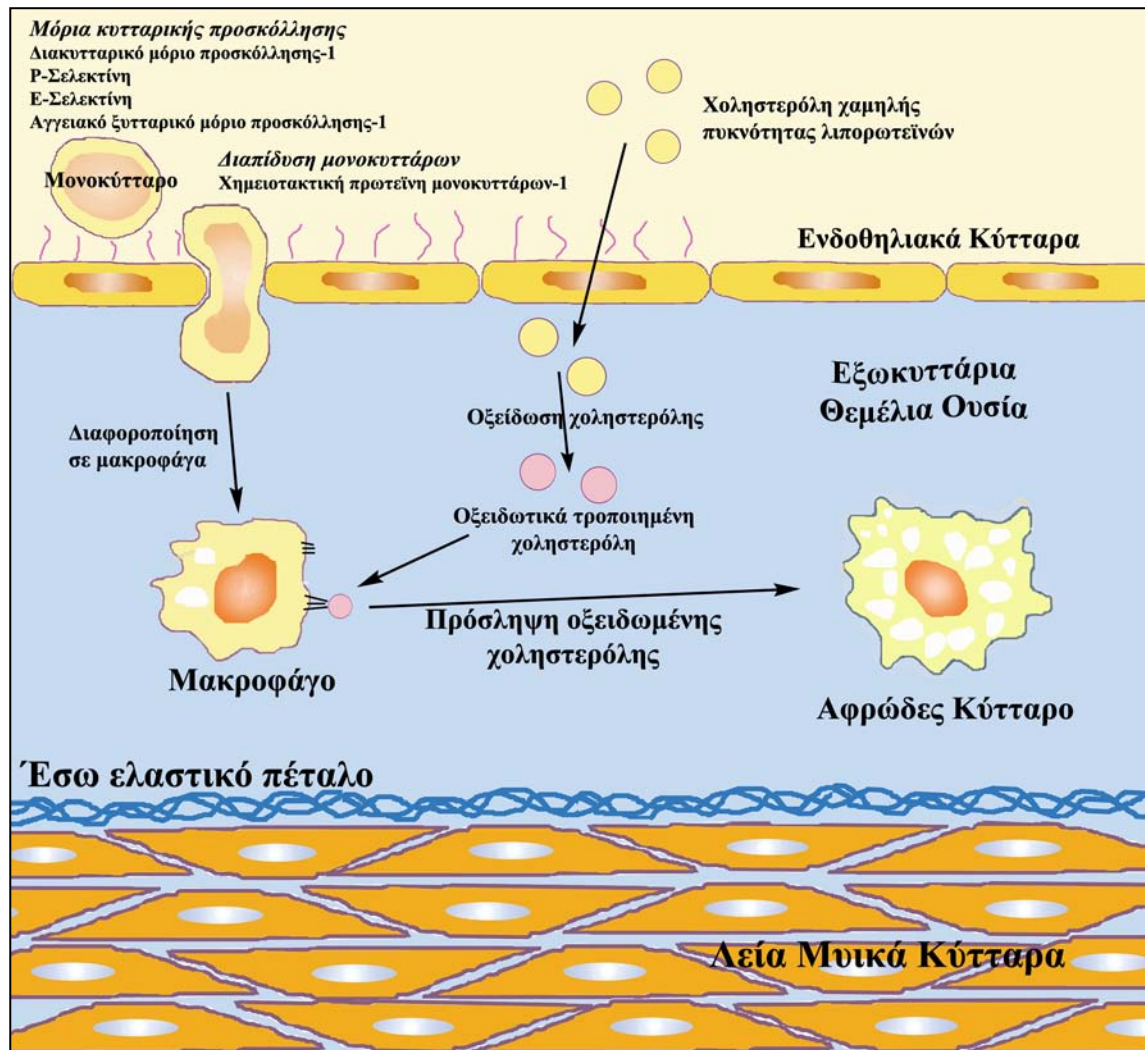
Αθηροσκλήρωση -

Πρώιμη ανίχνευση αθηρωματικής νόσου

2.1 Παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης

Η αθηροσκλήρωση (*atherosclerosis*), η οποία αποτελεί το παθολογικό υπόστρωμα της πλειονότητας των καρδιαγγειακών νοσημάτων, θεωρείται πλέον ως μια μορφή χρόνιας φλεγμονώδους διεργασίας του τοιχώματος των αγγείων. Η έναρξη και η εξέλιξη αυτής της φλεγμονώδους διεργασίας βασίζονται στις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ τροποποιημένων λιποπρωτεϊνών, μακροφάγων, T λεμφοκυττάρων και των φυσιολογικών κυτταρικών στοιχείων του αρτηριακού τοιχώματος, δηλαδή των ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η ανάπτυξη αθηρωματικών πλακών, οι οποίες προβάλλουν μέσα στον αρτηριακό αυλό και προκαλούν αποφρακτικά φαινόμενα στα αγγεία. Η ρήξη των πλάκας και η επακόλουθη δημιουργία θρόμβου οδηγούν σε οξείες κλινικές επιπλοκές, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια [53, 54].

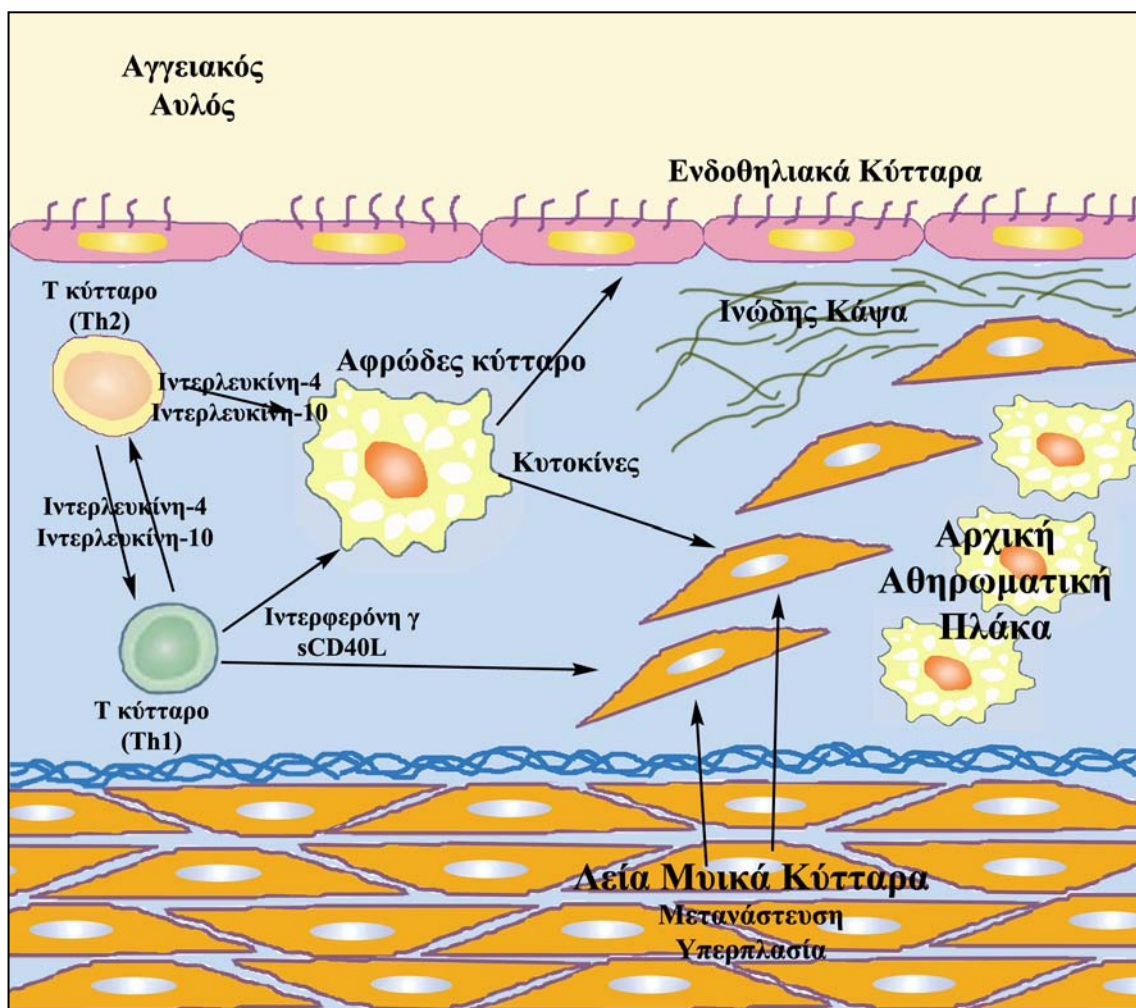
Ανάμεσα από πολλούς γενετικούς και επιγενετικούς παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης, τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης κατέχουν σημαντική θέση καθώς φαίνεται ότι σχετίζονται άμεσα με την εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου των αγγείων ακόμη και χωρίς την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου [54]. Η χοληστερόλη στον ορό μεταφέρεται από σωματίδια λιποπρωτεϊνών με ποικίλες δράσεις. Τα χυλομικρά είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά των προσλαμβανόμενων από τη διατροφή λιπιδίων, ενώ τα σωματίδια που μεταφέρουν τη χοληστερόλη συνδεδεμένη με τις πολύ χαμηλής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες διακινούν τα ενδογενώς παραγόμενα λιπίδια. Παρά το γεγονός ότι η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη αποτελεί ένα φυσιολογικό τρόπο μεταφοράς χοληστερόλης στους περιφερικούς ιστούς, τα αυξημένα



Εικόνα 2.1. Αρχικά στάδια αθηρωμάτωσης – Δημιουργία λιπωδών γραμμώσεων

επίπεδα στο αίμα σχετίζονται με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων [54].

Σήμερα θεωρείται πλέον ότι το εναρκτήριο συμβάν για την εμφάνιση των αθηρωματικών βλαβών στα αγγεία είναι η μετανάστευση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών εντός του αγγειακού τοιχώματος (Εικόνα 2.1). Η οξειδωτική τροποποίηση των λιπιδίων και της απολιποπρωτεΐνης Β και η επακόλουθη πρόσληψή τους από τα μακροφάγα οδηγεί στο σχηματισμό των πιο πρώιμων αθηρωματικών βλαβών, των λιπωδών γραμμώσεων (fatty streaks) [55]. Η οξειδωτικά τροποποιημένη χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (oxidized LDL) συνδέεται με ειδικούς υποδοχείς ‘καθαριστές’ (scavengers) των μακροφάγων και παρουσιάζει μια μεγάλη σειρά προ-φλεγμονωδών και προ-αθηρογόνων δράσεων [54]. Παρά το γεγονός ότι η στρατολόγηση των μονοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα και η διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα μπορεί αρχικά να



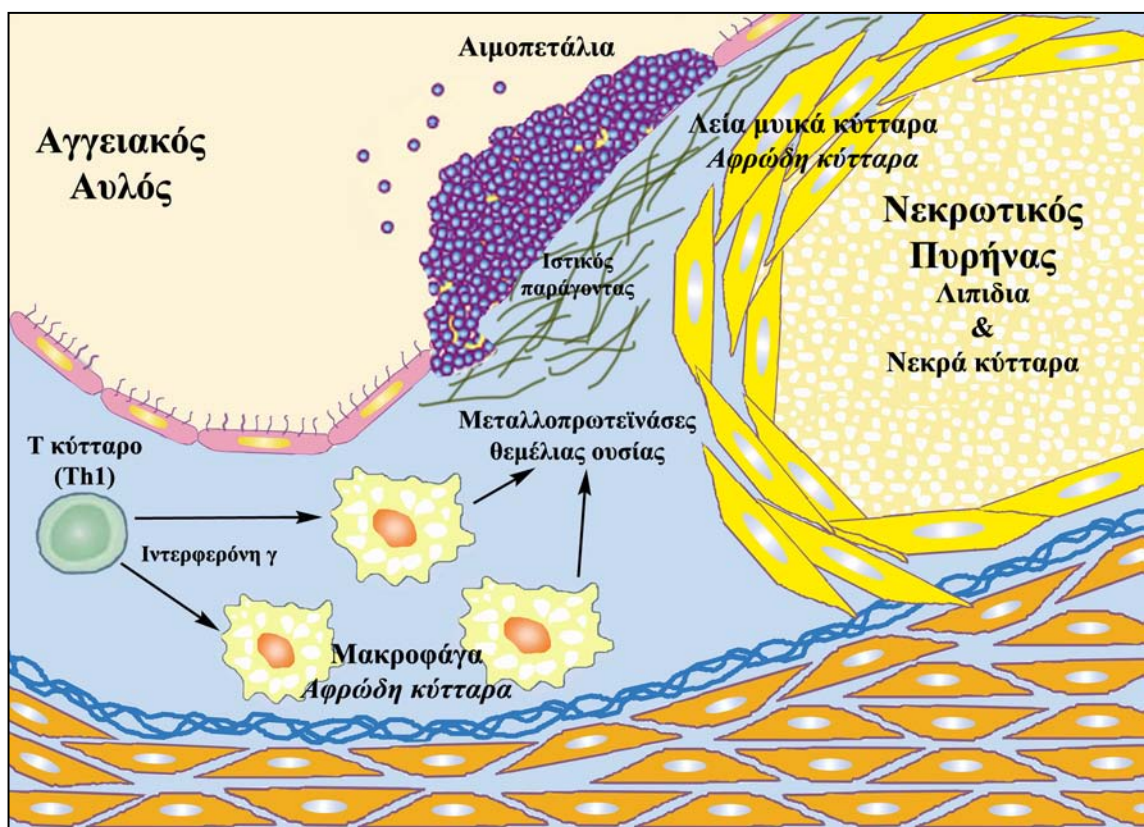
Εικόνα 2.2. Εξέλιξη αθηρωματικής βλάβης – Δημιουργία αθηρωματικής πλάκας

αποτελεί έναν προστατευτικό μηχανισμό για την απομάκρυνση κυτταροτοξικών και προφλεγμονωδών ουσιών ή αποπτωτικών κυττάρων, η προοδευτική συσσώρευση οξειδωτικά τροποποιημένης χοληστερόλης εντός των μακροφάγων οδηγεί τελικά στη δημιουργία αφρώδων κυττάρων (foam cells) και την επακόλουθη ανάπτυξη των αθηρωματικών βλαβών (**Εικόνα 2.1**) [56]. Η προσέλκυση των μονοκυττάρων στις περιοχές των αγγείων που εμφανίζουν την ‘προδιάθεση’ για την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης ρυθμίζεται από την έκφραση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης (adhesion molecules), τα οποία εμφανίζονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων ως απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα (**Εικόνα 2.1**). Εκτός από την οξειδωτικά τροποποιημένη χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας [57], άλλα μόρια όπως η χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων 1 (monocyte chemoattractant protein-1, *MCP-1*) και η ιντερλευκίνη 8 (Interleukin-8, *IL-8*) μπορούν επίσης να επάγουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης και να ρυθμίζουν τη διακίνηση των μονοκυττάρων [55]. Το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 (intercellular

adhesion molecule-1, *ICAM-1*) εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα πάνω από τις περιοχές των αγγείων όπου αναπτύσσονται αθηρωματικές βλάβες, εμφανίζει ειδίκευση ως προς την πρόσδεση των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων και η έκφρασή του ρυθμίζεται από προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα [58]. Οι σελεκτίνες E και P (endothelial & platelet selectins, *E & P selectin*) μαζί με το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση και μετακίνηση των μονοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα, αφού η έλλειψή τους σε πειραματόζωα με γονιδιακή προδιάθεση για εμφάνιση αθηροσκλήρωσης οδηγεί σε μείωση της διαπίδυσης των μονοκυττάρων εντός του αγγειακού τοιχώματος και επιβράδυνση της εξέλιξης της αθηρωματικής διαδικασίας [59, 60].

Η μετάβαση από τις σχετικά απλές λιπώδεις γραμμές σε τυπικές αθηρωματικές πλάκες χαρακτηρίζεται από τη μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων από τον μέσο χιτώνα της αρτηρίας, διαμέσου του έσω ελαστικού πετάλου, στον έσω χιτώνα και τον υπενδοθηλιακό χώρο (**Εικόνα 2.2**). Τα λεία μυϊκά κύτταρα πολλαπλασιάζονται, προσλαμβάνουν τις τροποποιημένες μορφές χοληστερόλης, συνεισφέρουν στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων και συνθέτουν πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας οδηγώντας στη δημιουργία της ινώδους κάψας [53]. Αυτή η φάση της ανάπτυξης των αθηρωματικών βλαβών χαρακτηρίζεται από την αλληλεπίδραση μεταξύ μονοκυττάρων/μακροφάγων και T λεμφοκυττάρων [61] με αποτέλεσμα να προσομοιάζει τα χαρακτηριστικά μιας χρόνιας φλεγμονώδους κατάστασης.

Μετά την εμφάνιση των αθηρωματικών πλακών, η ανοσολογική απόκριση των φλεγμονωδών κυττάρων που υπάρχουν στις βλάβες καθορίζει την εξέλιξη της πλάκας. Η παραγωγή διαφόρων κυτοκινών με ποικίλες αντι-αθηρογόνες και προ-αθηρογόνες δράσεις, όπως η ιντερφερόνη γ (*Interferon γ, INFγ*), το μόριο CD40L και οι ιντερλευκίνες 4 και 10 (*IL-4 & IL-10*), συμβάλλει στη δημιουργία μιας ισορροπίας η οποία καθορίζει την εξέλιξη είτε προς μια σταθερή ή μια ασταθή αθηρωματική πλάκα [54]. Τα οξέα καρδιαγγειακά συμβλήματα που οδηγούν σε έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια είναι συνήθως αποτέλεσμα ρήξης και θρόμβωσης μιας ασταθούς πλάκας (**Εικόνα 2.3**). Η ρήξη αθηρωματικών πλακών γενικά συμβαίνει στις παρυφές των πλακών και είναι πιο πιθανόν να εμφανιστεί σε πλάκες με λεπτές ινώδεις κάψες, υψηλή συγκέντρωση σε μακροφάγα και μεγάλους νεκρωτικούς πυρήνες [62]. Στην αποσταθεροποίηση μιας αθηρωματικής πλάκας συμβάλλουν και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της θεμέλιας ουσίας (*matrix metalloproteinases, MMPs*), οι οποίες είναι ένζυμα που παράγονται από τα φλεγμονώδη κύτ-



Εικόνα 2.3. Ασταθής αθηρωματική πλάκα – Ρήξη πλάκας και θρόμβωση

ταρα της πλάκας και καταβολίζουν τις πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας αποδυναμώνοντας την πλάκα [63].

2.2 Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και αθηροσκλήρωση

Το ενδοθήλιο είναι το εσωτέρο στρώμα κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος και ο πιο σημαντικός ρυθμιστής της αγγειακής ομοιοστασίας, διατηρώντας την ισορροπία μεταξύ αγγειοδιαστολής και αγγειοσύσπασης, αναστολής και ενεργοποίησης του πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης λείων μυϊκών κυττάρων, θρομβογένεσης και ινωδόλυσης [64]. Το ενδοθήλιο ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο μέσω της απελευθέρωσης αγγειοδιασταλτικών ουσιών, όπως το μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide, *NO*), η προστακυκλίνη (prostacyclin), η βραδυκίνη (bradykinin) και αγγειοσυσταλτικών ουσιών, όπως η ενδοθηλίνη-1 (endothelin-1, *ET-1*) και η αγγειοτενσίνη II (angiotensin II), σε απάντηση σε φυσικά ή χημικά ερεθίσματα. Το μονοξείδιο του αζώτου αποτελεί τον βασικό και πιο σημαντικό μεσολαβητή όλων των αγγειοπροστατευτικών δράσεων του ενδοθηλίου. Εκτός από

μια ισχυρή αγγειοδιασταλτική ουσία, το μονοξειδίο του αζώτου είναι και μια ουσία με αντιφλεγμονώδεις, αντι-υπερπλαστικές και αντιθρομβωτικές δράσεις [64].

Κάτω από προ-αθηρωματικές συνθήκες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα χάνουν την ικανότητά τους να παράγουν μονοξειδίο του αζώτου και εμφανίζουν αυξημένη έκφραση αγγειοσυσταλτικών, προ-φλεγμονωδών και προ-θρομβωτικών παραγόντων. Η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου αζώτου (εξαιτίας μειωμένης παραγωγής ή/και αυξημένης αποδόμησης από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου) έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και την επακόλουθη έναρξη μιας σειράς διεργασιών που ενισχύουν περαιτέρω τον προ-αθηρογόνο αγγειακό φαινότυπο προκαλώντας τη διαιώνιση ενός φαύλου κύκλου που οδηγεί στο σχηματισμό, την εξέλιξη και ρήξη των αθηρωματικών βλαβών [65].

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία εμφανίζεται ήδη από τα πρώιμα στάδια της αθηρωμάτωσης, αρκετό χρόνο πριν την εμφάνιση δομικών αλλαγών στο αγγειακό τοίχωμα, και συμμετέχει ενεργά στη δημιουργία και εξέλιξη των αθηρωματικών πλακών [66]. Επομένως η σχέση της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο φαίνεται να αρχίζει νωρίς, στα προ-κλινικά στάδια της αθηροσκλήρωσης, και έχουν προταθεί μια σειρά μηχανισμών που εξηγούν τη σχέση αυτή. Σε προ-κλινικά στάδια θεωρείται ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αντανακλά την συσσωρευμένη επίδραση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου στα αγγεία και μπορεί να σχετίζεται με την παρουσία και την έκταση της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης [65]. Από την άλλη η επιδείνωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε ασθενείς με ήδη γνωστή εγκατεστημένη αθηροσκλήρωση μπορεί να σχετίζεται με την παρουσία ευάλωτων/ασταθών αθηρωματικών πλακών και την επικείμενη ρήξη τους καθώς για παράδειγμα, η απώλεια της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής έχει σαν αποτέλεσμα μια αδυναμία περιορισμού της τοπικής διατμητικής τάσης του αρτηριακού τοιχώματος και τη δημιουργία τοπικών υδροδυναμικών συνθηκών που αυξάνουν τον κίνδυνο ρήξης ή διάβρωσης της πλάκας [65]. Επιπλέον, η απώλεια των αντιφλεγμονωδών επιδράσεων του μονοξειδίου του αζώτου και η αυξημένη ενδοθηλιακή έκφραση των προ-φλεγμονωδών παραγόντων συμβάλλει στη συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων και τη μετατροπή μιας σταθερής σε ευάλωτη/ασταθή πλάκα [67]. Περαιτέρω, η απώλεια των αντι-αιμοπεταλιακών δράσεων του μονοξειδίου του αζώτου και της προστακυκλίνης και η ταυτόχρονη αυξημένη παραγωγή προ-θρομβωτικών και αντι-ινωδολυτικών παραγόντων προάγουν την αρτηριακή θρόμβωση. Το προ-θρομβωτικό περιβάλλον σε συνδυασμό με

την απώλεια των αγγειοδιασταλτικών δράσεων του μονοξειδίου του αζώτου αυξάνουν την πιθανότητα πλήρους απόφραξης του αυλού μετά από ρήξη της πλάκας [68].



Εικόνα 2.4. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι βιοδείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας [69].

Η κατανόηση της σημασίας της πρώιμης ανίχνευσης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας οδήγησε στην ανάπτυξη αρκετών μεθόδων εκτίμησης της πολύπλευρης λειτουργίας του αγγειακού ενδοθηλίου. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας είναι η μέτρηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (endothelium-dependent vasodilation) των αρτηριών καθώς και η ανίχνευση στο αίμα διαφόρων προ-/αντι-φλεγμονωδών, προ-/αντι-θρομβωτικών και προ-/αντι-νωδολυτικών δεικτών (**Εικόνα 2.4**) [69].

2.2.1 Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή

Ο ‘χρυσός κανόνας’ στην εκτίμηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής θεωρείται η απευθείας εκτίμηση της λειτουργίας του ενδοθηλίου στα στεφανιαία αγγεία (**Εικόνα 2.5**) με την έγχυση ακετυλχολίνης στη στεφανιαία κυκλοφορία και την αγγειογραφική εκτίμηση των μεταβολών που εμφανίζονται στη διάμετρο, τη ροή και την αντίσταση των στεφανιαίων αγγείων [70]. Η απάντηση στην ακετυλχολίνη αποτελεί έναν δεί-

κτη της βιοδιαθεσιμότητας του μονοξειδίου του αζώτου και της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής και ως φυσιολογική αντίδραση θεωρείται μια αύξηση της στεφανιαίας ροής >50 % μετά τη χορήγηση της ακετυλχολίνης. Σε περίπτωση δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου η χορήγηση ακετυλχολίνης σχετίζεται με παράδοξη αντίδραση των στεφανιαίων αγγείων (αγγειοσύσπαση και μεί-



Εικόνα 2.5. Εκτίμηση ενδοθηλιακής λειτουργίας στα στεφανιαία αγγεία [70].

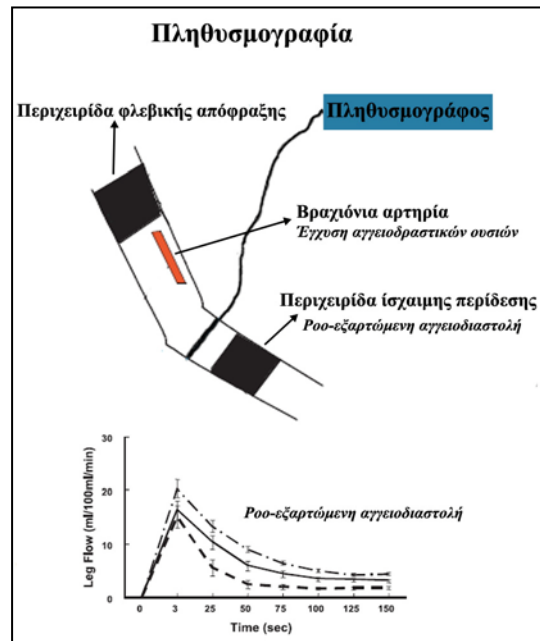
ωση της στεφανιαίας ροής) [70]. Η ενδοστεφανιαία χορήγηση νιτρογλυκερίνης χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της μη ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής των στεφανιαίων αγγείων, ενώ η χορήγηση της αδενοσίνης, λόγω της αύξησης της ροής που προκαλεί στα στεφανιαία αγγεία, βοηθά στην εκτίμηση της ροοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (flow-mediated dilation, *FMD*) των στεφανιαίων αγγείων [69].

Η επεμβατική φύση και οι δυσκολίες στην εκμάθηση και εκτέλεση της μεθόδου εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας στη στεφανιαία κυκλοφορία έστρεψαν το ενδιαφέρον στην αναζήτηση άλλων λιγότερο επεμβατικών αλλά αξιόπιστων τεχνικών εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Η διαπίστωση της συστηματικής φύσεως της διαταραχής του ενδοθηλίου οδήγησε στην ανάπτυξη μεθόδων εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας στην περιφερική κυκλοφορία, κυρίως των άνω άκρων με τη χρήση διαφόρων τεχνικών [69].

Η πληθυσμογραφία (venous occlusion plethysmography) είναι η πιο παλιά χρησιμοποιούμενη μέθοδος εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και στηρίζεται στη μέτρηση των μεταβολών στην αγγειακή ροή των ιστών μέσω της εκτίμησης των μεταβολών του όγκου των υπό μελέτη ιστών μετά τη χρησιμοποίηση περιχειρίδας σύσφιξης εγγύς του σημείου μέτρησης [71]. Σήμερα χρησιμοποιείται η τροποποιημένη πιο επεμβατική μέθοδος που περιλαμβάνει τον καθετηριασμό της βραχιόνιας αρτηρίας και τη χορήγηση αγωνιστών (ακετυλχολίνη, βραδυκινίνη, μεταχολίνη) του ενδοθηλίου που δρω μέσω αύξησης της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου (**Εικόνα 2.6**). Η ενδοθηλιακή λειτουργία στην μικροκυκλοφορία εκτιμάται από την αύξηση της αιματικής ροής στο άκρο λόγω της επαγόμενης ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Ακολούθως η χρήση άμεσων χαλαρωτικών παραγόντων των λείων μυϊκών αγγειακών κυττάρων βοηθά στον υπολογισμό της μη

ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής [69]. Παρά το γεγονός ότι η επηρεασμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της μικροκυκλοφορίας, όπως μετράται με την πληθυσμογραφία, έχει συσχετιστεί με την παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και την πρόγνωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων [72-74], ο επεμβατικός χαρακτήρας της μεθόδου περιορίζει την διαθεσιμότητά της στην καθημερινή κλινική πράξη αλλά την καθιστά ένα εξαιρετικό ερευνητικό εργαλείο.

Η ροομετρία με τη χρήση λέιζερ Doppler (laser Doppler flowmetry) επιτρέπει την παρακολούθηση της μικροκυκλοφορίας του



Εικόνα 2.6. Πληθυσμογραφία φλεβικής απόφραξης [71].

δέρματος [75] και η χρήση της στην εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας των αγγείων στηρίζεται στην υπόθεση ότι οι μεταβολές που παρατηρούνται στη δερματική κυκλοφορία αντικατοπτρίζουν τις μεταβολές που συμβαίνουν και σε άλλα αγγεία όπως τα στεφανιαία [76]. Ωστόσο κάτι τέτοιο δεν έχει αποδειχτεί επαρκώς. Η εκτίμηση της αιματικής ροής των δερματικών αγγείων γίνεται μέσω του υπολογισμού του φωτός που επιστρέφει στο δέκτη από την ανάκλαση στα κυτταρικά στοιχεία του αίματος [77]. Η μέθοδος συνδυάζεται με τη χορήγηση διαφόρων αγγειοδραστικών ουσιών μέσω ιοντοφόρησης (iontophoresis), τη χρήση περιχειρίδας και ισχαιμης περίδεσης ή τη θέρμανση του δέρματος και την παρακολούθηση των μεταβολών της αγγειακής ροής. Η απόκριση των δερματικών αγγείων στην ακετυλχολίνη έχει συσχετιστεί με την παρουσία διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [78, 79].

Μια πιο σύγχρονη μέθοδος εκτίμησης της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής περιλαμβάνει τη χρήση τονομετρίας (arterial tonometry) και τον καθορισμό των μεταβολών της κυματομορφής του παλμού σε αρτηρίες του άνω άκρου μετά από χορήγηση νιτρογλυκερίνης (μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) και σαλβουταμόλης (ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) [80]. Παρά το γεγονός ότι έχουν γίνει λίγες μελέτες με τη χρήση τονομετρίας, έχει δείχτεί ότι η επηρεασμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή έχει συσχετιστεί με την παρουσία του σακχαρώδη διαβήτη [80], της υπερχοληστερολαιμίας [81], της στεφανιαίας νόσου [82] και της περιφερικής αγγειακής νόσου [83].

Ωστόσο, δεν είναι γνωστή η προγνωστική αξία των αποτελεσμάτων της μεθόδου σε μεγάλες κλινικές μελέτες.

2.2.2 Ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας

Η ενδοθηλιακή λειτουργία μπορεί να εκτιμηθεί μη επεμβατικά με τη χρήση υπερήχων υψηλής ανάλυσης στη βραχιόνια αρτηρία για την παρακολούθηση των μεταβολών της αρτηριακής διαμέτρου ως απάντηση σε αυξημένη ροή στο αγγείο, ένα σημαντικό φυσιολογικό ερέθισμα της αύξησης της ενδοθηλιακής παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου [84-86]. Αυτή η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη διεργασία είναι γνωστή και ως ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (flow-mediated dilation).

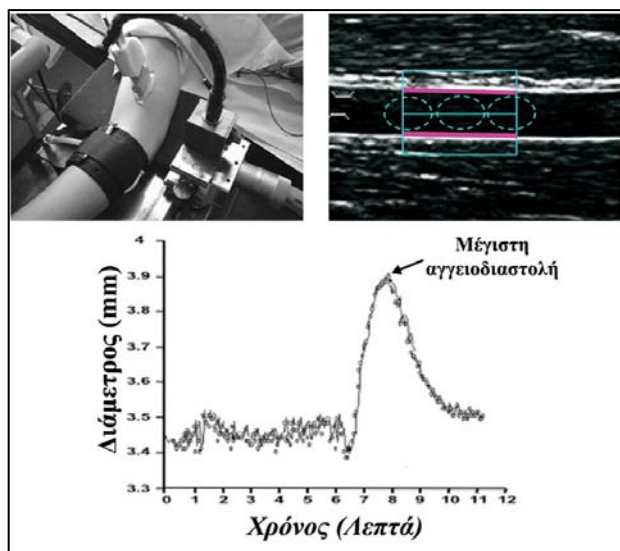
Τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν μονοξείδιο του αζώτου και άλλους αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες (π.χ. προσταγλανδίνες) ως απάντηση στο αυξημένο μηχανικό στρες. Οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων οι διατμητικές δυνάμεις της ροής και η επακόλουθη μεταγωγή του ενδοκυττάριου σήματος μεταβάλλουν τον αγγειοκινητικό τόνο δεν είναι πλήρως κατανοητοί, αλλά περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (nitric oxide synthase, *NOS*) και της παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου, το οποίο προκαλεί αγγειοδιαστολή στην προσπάθεια να αντιρροπήσει το αυξημένο τοιχωματικό στρες [70]. Με βάση αυτές τις αρχές της παθοφυσιολογίας των αγγείων έχει αναπτυχθεί η τεχνική εκτίμησης της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής [84]. Περιλαμβάνει την μέτρηση της μεταβολής της διαμέτρου μιας αρτηρίας (πιο συχνά της βραχιόνιας) σε απόκριση στην αυξημένη ροή, η οποία τυπικά επάγεται από μια περίοδο ισχαιμίας στο άπω αγγειακό σύστημα. Η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή είναι μειωμένη σε άτομα με αθηροσκλήρωση και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου [84], ενώ έχει δείξει ότι σχετίζεται καλά με την αγγειοδιασταλτική λειτουργία των στεφανιαίων αγγείων [87] και διάφορους ορολογικούς δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας.

Η εκτίμηση της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία παρουσιάζει πολλές τεχνικές προκλήσεις και θα πρέπει να γίνεται σωστή εκπαίδευση των χειριστών προκειμένου να αποφεύγονται σοβαρά συστηματικά σφάλματα στις μετρήσεις. Η απεικόνιση της βραχιόνιας αρτηρίας γίνεται με τη βοήθεια μηχανήματος υπερήχων υψηλής ευκρίνειας με ειδική κεφαλή υψηλών συχνοτήτων (5-13 MHz) για τη μελέτη αγγείων

ενώ συνήθως χρησιμοποιείται και κάποιο λογισμικό αυτόματης ανάλυσης των εικόνων που αποθηκεύτηκαν. Τα άτομα που υποβάλλονται στη μέθοδο ιδανικά θα πρέπει να είναι σε νηστεία ή να έχουν πάρει το πολύ ένα γεύμα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και να αποφεύγουν τη λήψη καφεΐνης για 2 ώρες πριν τη μελέτη [70].

Τα υπό εξέταση άτομα λαμβάνουν την ύπτια θέση τουλάχιστον για 10 λεπτά (για τη σταθεροποίηση της αρτηριακής πίεσης) σε ένα ζεστό δωμάτιο με ελεγχόμενη θερμοκρασία. Στο στήθος του ασθενούς προσκολλώνται 3 ηλεκτρόδια για την παρακολούθηση του ηλεκτροκαρδιογραφήματος επιφανείας. Η βραχιόνια αρτηρία απεικονίζεται σε επιμήκη τομή 5-10 εκατοστά πάνω από τον αγκώνα πάντα στην ίδια σταθερή θέση με τη βοήθεια ειδικού μηχανισμού ακινητοποίησης της κεφαλής του υπερήχου που επιτρέπει όμως διορθωτικές μικροκινήσεις για τη βέλτιστη απεικόνιση (Εικόνα 2.7). Μια καταγραφή σήματος Doppler από το κέντρο του αγγείου λαμβάνεται για τον υπολογισμό της ροής του αγγείου σε ηρεμία [70]. Μια περιχειρίδα μανόμετρου τοποθετείται συνήθως στο αντιβράχιο ή πιο σπάνια ψηλότερα στο βραχίονα για τη δημιουργία ισχαιμικού ερεθίσματος. Η

προκαλούμενη αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία φαίνεται να αποκλείεται πλήρως μετά από χορήγηση της N^G-μονομεθυλο- L - αργινίνης (L-NMMA), ενός αναστολέα της σύνθεσης του μονοξειδίου του αζώτου, μόνο στην περίπτωση που η ισχαιμική περίδεση γίνεται στο αντιβράχιο. Αντιθέτως, η αντιδραστική υπεραιμία μετά από περίδεση στο βραχίονα αποδίδεται εν μέρει στη δράση του μονοξειδίου του αζώτου καθώς είναι πιθανόν να συμμετέχουν και



Εικόνα 2.7. Εκτίμηση της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία

άλλες αγγειοδραστικές ουσίες, όπως οι προσταγλανδίνες [85]. Η σύσφιξη της περιχειρίδας διατηρείται για 4-5 λεπτά και γίνεται σε επίπεδα πίεσης πάνω από τη συστολική, τα οποία καθορίζονται εκ των προτέρων και είναι συνήθως 300 mmHg για ενήλικες και 200 mmHg για παιδιά ή ορίζονται ως 50 mmHg πάνω από τη συστολική πίεση του εξεταζόμενου. Ακολούθως, η περιχειρίδα ξεσφίγγει γρήγορα και λαμβάνονται καταγραφές ροής και διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας για τα επόμενα 2-5 λεπτά. Η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας καθορίζεται ως η μέγιστη ποσοστιαία μεταβολή της δια-

μέτρου της αρτηρίας κατά την υπεραιμία σε σύγκριση με τις τιμές ηρεμίας (**Εικόνα 2.7**). Η επαγόμενη αντιδραστική υπεραιμία ορίζεται ως η ποσοστιαία μεταβολή της ροής στην αρτηρία σε σχέση με την ηρεμία. Γενικά, η μέτρηση της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία είναι η πιο κοινή και καθιερωμένη τεχνική μη επεμβατικής εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας των αγγείων [70].

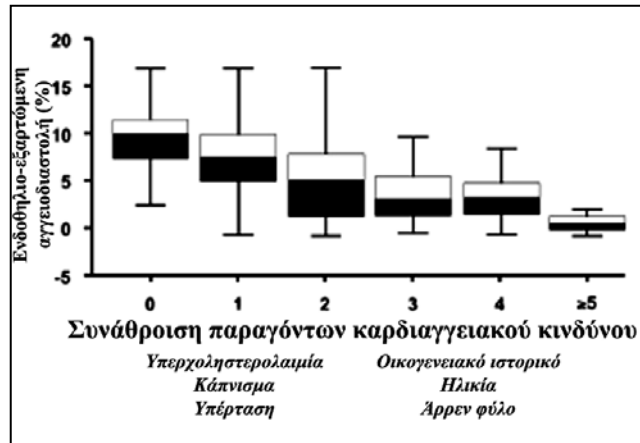
Η μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή εκτιμάται με τη χορήγηση υπογλώσσιας νιτρογλυκερίνης 200-400 μg. Η καταγραφή της διαμέτρου και του σήματος Doppler της αρτηρίας σε κατάσταση ηρεμίας ακολουθείται από τη χορήγηση υπογλώσσιας νιτρογλυκερίνης. Ακολούθως καταγράφεται η διάμετρος και το σήμα Doppler της αρτηρίας μετά από 3-5 λεπτά. Η νιτροδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (nitrate-mediated dilation, *NMD*) υπολογίζεται ως η μέγιστη ποσοστιαία μεταβολή της διαμέτρου της αρτηρίας σε σχέση με την ηρεμία. Μικρότερες δόσεις έως και 25 μg μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν με λιγότερες παρενέργειες (π.χ. κεφαλαλγίες, ζάλη, υπόταση) [70].

2.2.3 Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και κλινική πρόγνωση

Η προγνωστική αξία της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων υποστηρίζεται καταρχήν από μελέτες στην στεφανιαία κυκλοφορία. Η μειωμένη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων αγγείων μπορεί να προβλέψει την μελλοντική επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων τόσο σε ασθενείς με προχωρημένη στεφανιαία νόσο [88, 89] όσο και άτομα με αγγειογραφικά φυσιολογικά ή σχεδόν φυσιολογικά στεφανιαία αγγεία [89, 90].

Η μέτρηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας στα περιφερικά αγγεία φαίνεται να έχει αντίστοιχη προγνωστική αξία με τις μετρήσεις στη στεφανιαία κυκλοφορία για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, όπως εκτιμάται με τη μείωση της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία, έχει συσχετιστεί με την παρουσία των περισσότερων καθιερωμένων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (δυσλιπιδαιμία, υπέρταση, κάπνισμα, σακχαρώδης διαβήτης, οικογενειακό ιστορικό πρόωρης στεφανιαίας νόσου) [53, 64, 84], παρουσιάζει μια γραμμική σχέση μείωσης με την άθροιση περισσότερων παραγόντων κινδύνου (**Εικόνα 2.8**) [91] και έχει δειχτεί ότι μπορεί να είναι μια αναστρέψιμη διαδικασία [66, 86]. Επιπλέον, η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας έχει αναφερθεί ότι προβλέπει τη μακροχρόνια επίπτωση

καρδιαγγειακών συμβαμάτων τόσο σε ασθενείς με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο [92-95] όσο και σε υγιείς ασυμπτωματικούς πληθυσμούς [96-98]. Έχει προταθεί μάλιστα ότι η παρακολούθηση της εξέλιξης των μετρήσεων με επαναλαμβανόμενες εξετάσεις της βραχιόνιας αρτηρίας ίσως να είναι σημαντικότερη από μια μεμονωμένη μετρηση [93, 99, 100]. Ωστόσο, υπάρχουν και μελέτες οι οποίες αναφέρουν αρνητικά αποτελέσματα ως προς τον



Εικόνα 2.8. Αθροιστική επίδραση της παρουσίας κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου στην ενδοθηλίο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας [91].

προ-γνωστικό ρόλο της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία [101-103] ή αναγνωρίζουν κάποια μικρή όμως συνεισφορά στην καρδιαγγειακή πρόγνωση [96].

Γενικά, θεωρείται ότι η ανίχνευση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στη βραχιόνια αρτηρία μπορεί να παρέχει επιπλέον προγνωστικές πληροφορίες για τον καρδιαγγειακό κίνδυνο πέραν αυτών που παρέχουν η γνώση της έκτασης της αθηρωματικής νόσου και του φορτίου των παραδοσιακών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [104]. Χρειάζονται, όμως, μεγάλες προοπτικές μελέτες που να αποδεικνύουν τον προγνωστικό ρόλο στην επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων, ενώ υπάρχουν περιορισμένα ως τώρα δεδομένα που να συστήνουν επίσης ότι η βελτίωση της επηρεασμένης ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής με τη θεραπεία μπορεί να οδηγήσει και σε καλύτερη καρδιαγγειακή πρόγνωση [105].

2.3 Αγγειακή φλεγμονή και αθηροσκλήρωση

Η αθηρογένεση, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, περιλαμβάνει τη συμμετοχή του ανοσολογικού συστήματος και την ύπαρξη μιας χρόνιας φλεγμονώδους απόκρισης στο αγγειακό τοίχωμα, ενώ η ίδια η φλεγμονή συμβάλλει στην τροποποίηση της εξέλιξης και της αποσταθεροποίησης των αθηρωματικών βλαβών [53]. Η αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο είναι το εναρκτήριο γεγονός στη διαδικασία της αθηρο-

σκλήρωσης και επιτρέπει την προσέλκυση των T λευκοκυττάρων και των μονοκυττάρων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. Η διείσδυση των κυττάρων φλεγμονής στο αρτηριακό τοίχωμα ακολουθείται από την απελευθέρωση ουσιών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου α (tumor necrosis α , *TNF α*), η ιντερλευκίνη 6 (*IL-6*) και άλλες κυτοκίνες (cytokines), που έχουν ως αποτέλεσμα την προσέλκυση ακόμη περισσότερων κυττάρων φλεγμονής. Η δράση της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης CD40 είναι σημαντική για την περαιτέρω ενίσχυση της αγγειακής φλεγμονής, καθώς η σύνδεσή της με το φυσικό της συνδέτη CD40L (CD40 ligand), ο οποίος εκφράζεται σε μονοκύτταρα και T λεμφοκύτταρα, οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή κυτοκινών και την ενίσχυση της χημειοταξίας κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων. Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η οποία παράγεται από το ήπαρ ως απάντηση στην ιντερλευκίνη 6 και αρκετά άλλα προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα, εκτός από ένας καθιερωμένος δείκτης φλεγμονής δρα και ως υποκινητής της ίδιας της αγγειακής φλεγμονής. Τέλος, ένας σημαντικός μεσολαβητής της φλεγμονώδους διεργασίας είναι και η αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species) με πολυσήμαντες δράσεις σε όλη τη διαδικασία της αθηρογένεσης, όπως η οξειδωτική τροποποίηση της χοληστερόλης, η ενεργοποίηση του προ-φλεγμονώδους μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα- κ B (nuclear factor- κ B, *NF- κ B*), η μείωση της ενεργότητας της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου καθώς και η ταχεία αδρανοποίηση του μονοξειδίου του αζώτου (μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα) [70].

Οι παραπάνω αναφερόμενοι μεσολαβητές της αγγειακής φλεγμονής μετά την έκφρασή τους στα κύτταρα και τις κυτταρικές μεμβράνες απελευθερώνουν στην κυκλοφορία τις διαλυτές μορφές τους, η μέτρηση των οποίων χρησιμοποιείται ως έμμεσος δείκτης της φλεγμονώδους ενεργοποίησης του ενδοθηλίου *in vivo*. Έχει παρατηρηθεί ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα των μορίων προσκόλλησης είναι υψηλότερα σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο και σχετίζονται ικανοποιητικά με τον μελλοντικό κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων [70]. Επίσης αυξημένα επίπεδα των διαλυτών μορφών των μορίων προσκόλλησης έχουν περιγραφεί και σε άτομα με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η διαταραχή ανοχής γλυκόζης [106] και η υπερχοληστερολαιμία [107].

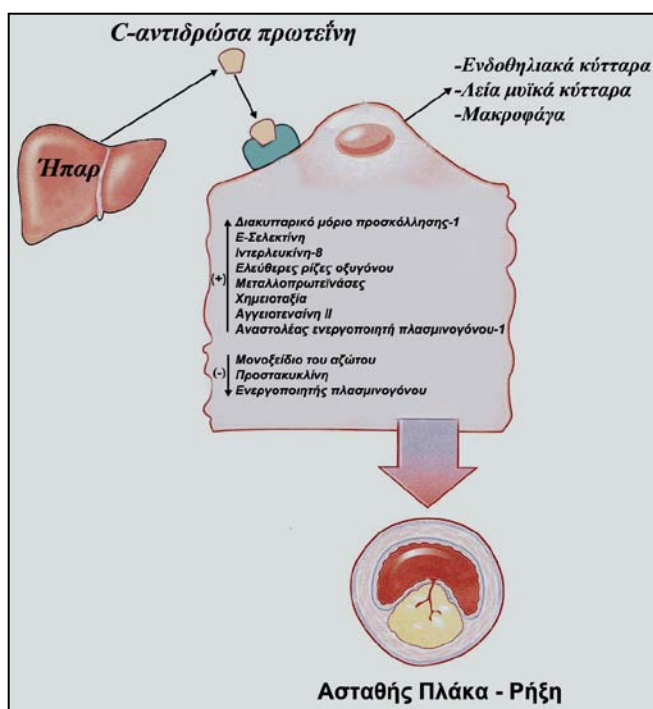
Στον **Πίνακα 2.1** αναφέρονται συνοπτικά οι πιο σημαντικοί μεσολαβητές της φλεγμονής που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για την εκτίμηση της προαθηρωματικής φλεγμονώδους διεργασίας του αγγειακού τοιχώματος.

Πίνακας 2.1. Βιοχημικοί δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και αγγειακής φλεγμονής

Δείκτης	Προέλευση	Βιολογική λειτουργία
<u>Μόρια προσκόλλησης</u>		
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1	Ενδοθηλιακά κύτταρα, λευκοκύτταρα	Προσκόλληση και μετανάστευση λευκοκυττάρων
Αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1	Ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα	Προσκόλληση λευκοκυττάρων
E-Σελεκτίνη	Ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα	Επιβράδυνση λευκοκυττάρων
P-Σελεκτίνη	Ενδοθηλιακά κύτταρα, αιμοπετάλια	Αλληλεπίδραση ενδοθηλίου/αιμοπεταλίων με λευκοκύτταρα
sCD40L	Ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, T λεμφοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα, μακροφάγα, μαστοκύτταρα	Αύξηση μορίων προσκόλλησης, ιστικού παράγοντα, μεταλλοπρωτεϊνών, χυμοκινών, ελεύθερων ριζών οξυγόνου, πολλαπλασιασμός B κυττάρων
<u>Κυτοκίνες</u>		
Ιντερλευκίνη-6	Ενδοθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα, T κύτταρα	Επαγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, μεταλλοπρωτεϊνών, προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων
Ιντερλευκίνη-18	Μακροφάγα	Αύξηση μορίων προσκόλλησης, μεταλλοπρωτεϊνών, προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων
Παράγοντας νέκρωσης όγκων-α	Μακροφάγα	Αύξηση μορίων προσκόλλησης, προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων, ενεργοποίηση T και B κυττάρων
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη	Ήπαρ	Αύξηση μορίων προσκόλλησης, χημειοταξίας, χυμοκινών, ελεύθερων ριζών οξυγόνου
8-ισο-προσταγλανδίνη F2a	Μη ενζυματική υπεροξειδωση λιπιδίων	Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, αύξηση ιστικού παράγοντα, πρόσληψη οξειδωμένης χοληστερόλης από μακροφάγα
Ενδοθελίνη-1	Ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα	Αγγειοσύσπαση, αύξηση μορίων προσκόλλησης, πολλαπλασιασμός λείων μυϊκών κυττάρων
Μεταλλοπρωτεϊνάσες	Μακροφάγα	Ιστική αναδιαμόρφωση, αστάθεια αθηρωματικών πλακών

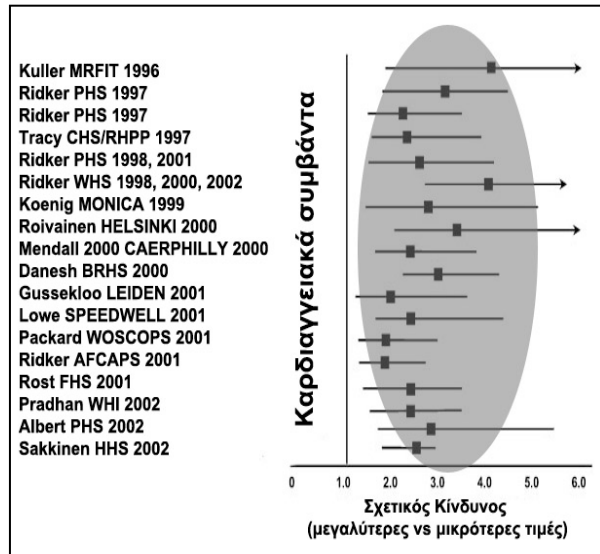
2.3.1 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη είναι ο πιο καλά μελετημένος βιοδείκτης φλεγμονής στην αθηροσκλήρωση. Πρόκειται για μια πρωτεΐνη οξείας φάσης η οποία αυξάνεται σε περιπτώσεις συστηματικής φλεγμονής σε έδαφος τραύματος, λοίμωξης και άλλων φλεγμονωδών ερεθισμάτων [108]. Ωστόσο πέρα από ένας απλός δείκτης φλεγμονής, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη φαίνεται να συμμετέχει ενεργά στην εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και την ενίσχυση της φλεγμονώδους εξεργασίας της αθηρογένεσης



(Εικόνα 2.9) [109]. Μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη παράγεται εντός των αθηρωματικών πλακών σε επίπεδα υψηλότερα από ότι σε φυσιολογικές αρτηρίες ή στο ήπαρ και συγκεντρώνεται κυρίως στα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα των αθηρωματικών πλακών [110]. Φαίνεται μάλιστα ότι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη δρα πάνω στα μονοκύτταρα/μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων αυξάνοντας την παραγωγή άλλων προφλεγμονωδών μορίων [111]. Επιπλέον, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου [112] και της προστακυκλίνης [113] από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνει την παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ανιόντα σουπεροξειδίου – superoxide anions), ενισχύει τη χημειοταξία και προσέλκυση νέων μονοκυττάρων [114], ενισχύει την προ-φλεγμονώδη δράση της αγγειοτενσίνης II [115] και αυξάνει την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος στο αρτηριακό τοίχωμα [116]. Τέλος, μέσω επαγωγής της έκφρασης του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) δρα πιθανόν και προ-θρομβωτικά [117]. Επομένως, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη δεν πρέπει να θεωρείται απλά και μόνο ως ένας δείκτης φλεγμονής αλλά και ως ενεργός προ-αθηρωματικός παράγοντας με σημαντικό ρόλο ενδεχομένως και στην αποσταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών [118, 119].

Σε αντίθεση με άλλους φλεγμονώδεις δείκτες υπάρχουν διαθέσιμες αξιόπιστες, ευαίσθητες και πλήρως αυτοματοποιημένες τεχνικές ανίχνευσής της στο αίμα που χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη [120]. Τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης έχουν συσχετιστεί με πολλούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως το κάπνισμα, η παχυσαρκία, η αρτηριακή υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία και η διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης σε ενήλικες και παιδιά [121, 122]. Σε υγιή άτομα με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου αλλά χωρίς γνωστή στεφανιαία νόσο τα αυξημένα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο (2-4 φορές μεγαλύτερη επίπτωση εμφράγματος μυοκαρδίου, θανάτου από στεφανιαία νόσο, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, περιφερικής αρτηριακής νόσου και αιφνιδίου θανάτου) (Εικόνα 2.10) [123]. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο, η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη αποτελούσε τον πιο ισχυρό προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου σε σύγκριση με άλλους δείκτες φλεγμονής, τα επίπεδα λιπιδίων και την ομοκυστεΐνη. Ακόμα και σε γυναίκες με χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών <130 mg/dl (άτομα που θεωρούνται χαμηλού κινδύνου) τα υψηλότερα επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν ενδεικτικά υψηλότερου κινδύνου για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα [124-126]. Τέλος, η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη αποτελεί έναν καλό προγνωστικό δείκτη θνητότητας (βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα) μετά από οξεία στεφανιαία επεισόδια [127-129].



Εικόνα 2.10. Συσχέτιση των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε υγιείς πληθυσμούς [123].

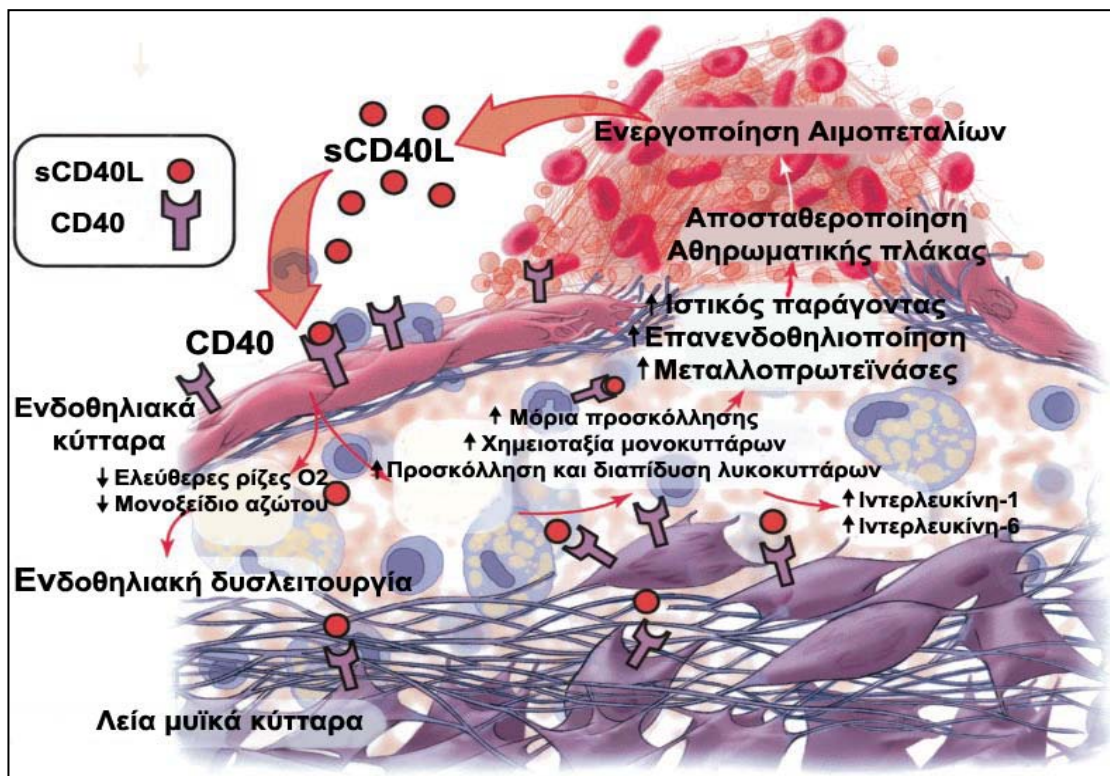
Οι κατευθυντήριες οδηγίες από διάφορους διεθνείς οργανισμούς υγείας συστήνουν σήμερα ότι η μέτρηση της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης είναι χρήσιμη για την περαιτέρω διαστρωμάτωσης ασθενών με μέτριο καρδιαγγειακό κίνδυνο με βάση τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου (δείκτης κινδύνου Framingham 10-20 %). Επίπεδα <1 mg/l είναι ενδεικτικά χαμηλού κινδύνου, 1-3mg/l ενδιάμεσου κινδύνου και >3mg/l υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα [120].

2.3.2 Διαλυτός συνδέτης του μορίου CD40 (*sCD40L*)

Το μόριο CD40 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη-υποδοχέας και ανήκει στην υπερικογένεια του παράγοντα νεκρώσεως όγκων (TNF superfamily) [130]. Ο κύριος τύπος κυττάρου που εκφράζει το μόριο CD40 αλλά και το φυσικό του συνδέτη CD40L είναι το Β λεμφοκύτταρο, ενώ έχει βρεθεί ότι παράγεται και σε άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα και τα αιμοπετάλια. Η εντόπιση του συστήματος CD40/CD40L στους βασικούς τύπους κυττάρων που εμπλέκονται στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης οδήγησε στη διατύπωση της υπόθεσης ότι αποτελεί έναν ενδιάμεσο σύνδεσμο μεταξύ της αγγειακής φλεγμονής, της αθηρωμάτωσης και της θρόμβωσης [130, 131].

Η παραγωγή του μορίου CD40 επάγεται από προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες και την οξειδωτικά τροποποιημένη χοληστερόλη στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων καθώς και στα αιμοπετάλια [131, 132]. Τα ενεργοποιημένα κύτταρα εκφράζουν ακολούθως και τον συνδέτη CD40L, ο οποίος απελευθερώνεται στην κυκλοφορία με τη διαλυτή του μορφή (*sCD40L*). Θεωρείται ότι >95 % των επιπέδων του *sCD40L* προέρχονται από τα αιμοπετάλια [133]. Η σύνδεση του *sCD40L* με το μόριο CD40 στην επιφάνεια των κυττάρων οδηγεί σε ενεργοποίηση του υποδοχέα και την είσοδό του στο κύτταρο [130]. Ο ενεργοποιημένος υποδοχέας αυξάνει την έκφραση σημαντικών μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο πυρηνικός παράγοντας κB και η ενεργοποιός πρωτεΐνη 1 (Activating Protein-1, *AP-1*), οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την αύξηση της μεταγραφής των γονιδίων αρκετών προ-φλεγμονωδών και προ-αθηρογόνων παραγόντων, όπως η E- και P-Σελεκτίνη, το αγγειακό μόριο προσκόλλησης 1 (vascular cell adhesion molecule-1, *VCAM-1*) και το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 [134]. Η αλληλεπίδραση CD40/CD40L έχει σημαντικό αντίκτυπο και στην αύξηση του οξειδωτικού στρες στο τοίχωμα των αγγείων και την επακόλουθη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του μονοξειδίου του αζώτου, η οποία εκτιμάται τελικά ως μειωμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή [135]. Επιπλέον, η ενεργοποίηση του συστήματος CD40/CD40L επάγει την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών οδηγώντας σε αποσταθεροποίηση και ρήξη των αθηρωματικών βλαβών [136]. Όμως, πέραν των επιδράσεων στο σχηματισμό αθηρώματος, η αλληλεπίδραση του CD40/CD40L παρουσιάζει βασικό ρόλο στην εξέλιξη των θρομβωτικών επεισοδίων μετά τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας αυξάνοντας την έκφραση του ιστικού παράγοντα στα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, μειώνοντας την έκφραση της θρομβομοδουλίνης (thrombo-

modulin) και εμποδίζοντας την διαδικασία της επανενδοθηλιοποίησης. Οι δράσεις αυτές σε συνδυασμό με τη μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου προκαλούν τοπικά συνθήκες που ευνοούν την έναρξη και εξέλιξη της αθηροθρόμβωσης [135-137]. Η διαλυτή μορφή sCD40L παρουσιάζει επίσης την ικανότητα να αλληλεπιδρά άμεσα με τη γλυκοπρωτεΐνη-υποδοχέα IIb/IIIa (glycoprotein IIb/IIIa, *gp IIb/IIIa*) των αιμοπεταλίων προκαλώντας την περαιτέρω ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την απελευθέρωση μεγαλύτερων ποσοτήτων sCD40L διακινώντας έτσι έναν φαύλο κύκλο συνεχούς ενεργοποίησης του συστήματος CD40/CD40L (Εικόνα 2.11) [137, 138].



Εικόνα 2.11. Ενεργοποίηση συστήματος CD40/CD40L – Αγγειακή φλεγμονή - Αθηροθρόμβωση [132].

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα του sCD40L είναι σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομο, πιο χαμηλά σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο και ακόμη πιο χαμηλά σε υγιή άτομα [139, 140]. Θεωρείται δε ότι η προέλευση των μετρούμενων επιπέδων του sCD40L διαφέρει μεταξύ υγιών ατόμων και ασθενών με στεφανιαία νόσο και οξεία στεφανιαία σύνδρομο. Σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο τα επίπεδα του sCD40L καθορίζονται κυρίως από την απελευθέρωση του μορίου από τα αιμοπετάλια, ενώ σε υγιή άτομα αποτελούν έναν δείκτη της υποκείμενης αγγειακής φλεγμονής [141]. Η παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου φαίνεται

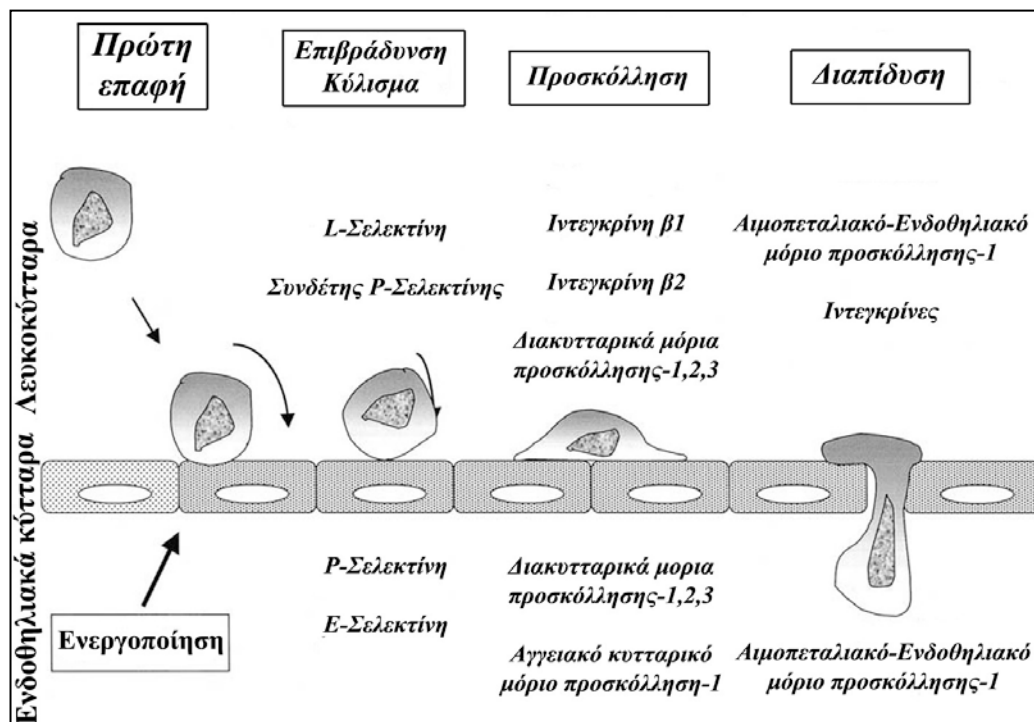
να έχει αθροιστική επίδραση στα μετρούμενα επίπεδα του μορίου: η συσσώρευση περισσότερων παραγόντων κινδύνου σχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα του sCD40L [140].

Όλο και περισσότερες κλινικές μελέτες αναδεικνύουν τον προγνωστικό ρόλο του sCD40L κυρίως μετά από οξεία στεφανιαία σύνδρομα ή ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο. Σε γυναίκες με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου τα υψηλά επίπεδα της διαλυτής μορφής CD40L σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων [142]. Στη μελέτη CAPTURE, ασθενείς με ασταθή στεφανιαία σύνδρομα παρουσίαζαν 3πλάσιο κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου ή θανάτου από καρδιαγγειακά αίτια όταν είχαν υψηλότερα επίπεδα του sCD40L [133], ενώ σε σταθερούς ασθενείς τα επίπεδα του μορίου ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας υποτροπιάζοντων καρδιαγγειακών συμβαμάτων [143]. Σε αντίθεση άλλες κλινικές μελέτες δεν ανέδειξαν καμιά συσχέτιση του sCD40L με την καρδιαγγειακή πρόγνωση σε ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο [144-146].

Τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των κλινικών μελετών έχουν αποδοθεί σε μεθοδολογικές αδυναμίες των διαφόρων τεχνικών μέτρησης των επιπέδων του sCD40L. Η ακατάλληλη προετοιμασία του υπό μελέτη δείγματος μπορεί να επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα του μορίου στον ορό λόγω *in vitro* ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων [147]. Η φυγοκέντρηση των δειγμάτων ολικού αίματος μετά την αιμοληψία πρέπει να γίνεται το συντομότερο δυνατόν καθώς η παρατεταμένη παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου πριν την ψύξη του δείγματος προκαλεί μια ψευδή αύξηση της διαλυτής μορφής του sCD40L στο δείγμα. Η προσωρινή αποθήκευση των δειγμάτων σε θερμοκρασία 4°C φαίνεται να έχει ελάχιστες επιπτώσεις στα επίπεδα του μορίου στο πλάσμα [148]. Τέλος, είναι σημαντικό τα δείγματα να λαμβάνονται σε καθορισμένο χρόνο κατά τη διάρκεια της ημέρας καθώς τα επίπεδα του μορίου στο αίμα παρουσιάζουν σημαντική διακύμανση κατά τη διάρκεια του 24ώρου [149].

2.3.3 Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης

Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία επιβράδυνσης, προσκόλλησης και τελικά διενδοθηλιακής μετανάστευσης των λευκοκυττάρων στα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης. Καθένα από τα παραπάνω στάδια χαρα-



Εικόνα 2.12. Ρόλος των διαφόρων μορίων προσκόλλησης στην αλληλεπίδραση λευκοκυττάρων-ενδοθηλιακών κυττάρων στα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης [150].

κτηρίζεται από τη συμμετοχή διαφορετικών μορίων προσκόλλησης (**Εικόνα 2.12**) [150]. Οι σελεκτίνες συνεισφέρουν στη σταδιακή επιβράδυνση και το κύλισμα των λευκοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα και εκφράζονται στα λευκοκύτταρα (L-Σελεκτίνη), τα αιμοπετάλια (P-Σελεκτίνη) και τα ενδοθηλιακά κύτταρα (E- και P-Σελεκτίνη). Η P-Σελεκτίνη φυσιολογικά αποθηκεύεται σε κοκκία μέσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια (σωματίδια Weibel-Palade) από όπου κινητοποιείται γρήγορα προς την επιφάνεια των κυττάρων μετά από την ενεργοποίησή τους από διάφορα ερεθίσματα. Η E-Σελεκτίνη δεν εκφράζεται φυσιολογικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά η έκφρασή της επάγεται μέσω της αύξησης των κυτοκινών, ελεύθερων ριζών οξυγόνου καθώς και βακτηριακών ενδοτοξινών [151, 152]. Η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο διεκπεραιώνεται από πρωτεΐνες μέλη της υπερικογένειας των ανοσοσφαιρινών, όπως τα διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης 1, -2 και -3 (*ICAM-1*, *ICAM-2*, *ICAM-3*), το αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 (*VCAM-1*) και το αιμοπεταλιακό και ενδοθηλιακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule-1, *PECAM-1*). Τα διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης 1 και -3 εκφράζονται συνεχώς στο αγγειακό τοίχωμα αλλά η έκφρασή τους αυξάνεται σημαντικά μετά την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω κυτοκινών ή βακτηριακών ενδοτοξινών. Το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 2 εκφρά-

ζεται μεν σε κατάσταση ηρεμίας στα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων από διάφορα προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα δεν οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του. Το αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 εμφανίζει επίσης σταθερή έκφραση σε κατάσταση ηρεμίας αλλά σε επίπεδα χαμηλότερα από ότι το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, ενώ τα επίπεδά του αυξάνονται μετά από προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα μέσω κινητοποίησης του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα κΒ. Τέλος, το αιμοπεταλιακό και ενδοθηλιακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 εκφράζεται σε αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα και λευκοκύτταρα και παίζει σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων αλλά δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την αύξηση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών [151, 152].

Οι διαλυτές μορφές των διαφόρων μορίων προσκόλλησης ανιχνεύονται φυσιολογικά στον ορό και αυξημένα επίπεδά τους έχουν καταγραφεί σε μια ποικιλία φλεγμονωδών νόσων συμπεριλαμβανομένων και των καρδιαγγειακών νοσημάτων [153]. Η διαλυτή μορφή του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 προέρχεται μάλλον από κατάτμηση της αντίστοιχης μεμβρανικής μορφής αν και σε πειραματόζωα τα επίπεδα στο αίμα δεν φαίνεται να σχετίζονται άμεσα με την έκφραση του μορίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα [154]. Η διαλυτή μορφή της P-Σελεκτίνης προέρχεται τόσο από τα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και τα αιμοπετάλια και επομένως δεν αποτελεί έναν ειδικό δείκτη ενδοθηλιακής ενεργοποίησης [155].

Η συμμετοχή των μορίων προσκόλλησης στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης και την παθογένεια των καρδιαγγειακών νοσημάτων στηρίζεται καταρχήν στα αποτελέσματα αρκετών πειραματικών μελετών [152, 156]. Οι μελέτες χορήγησης μονοκλωνικών αντισωμάτων που αποκλείουν στοχευμένα τη λειτουργία συγκεκριμένων μορίων προσκόλλησης και η ανάπτυξη μεταλλαγμένων στελεχών ποντικών με γονιδιακή ανεπάρκεια σε ένα ή περισσότερα μόρια προσκόλλησης έχουν δείξει ότι η έλλειψη των μορίων αυτών σχετίζεται με μειωμένη ανάπτυξη αθηρωματικής νόσου στα πειραματόζωα [151, 152]. Η πλήρης απουσία της P- και E-Σελεκτίνης ή του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 ή η μερική απουσία του αγγειακού μορίου προσκόλλησης 1 σε ποντίκια που παρουσιάζουν γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση αθηροσκλήρωσης σχετίζονται με σημαντική καθυστέρηση στην ανάπτυξη αθηρωματικών βλαβών [155, 156].

Τα επίπεδα των διαλυτών μορφών των μορίων προσκόλλησης στο αίμα έχειδειχτεί ότι σχετίζονται με διάφορους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου όπως το κάπνισμα [157], η υπέρταση [158-160], η υπερχοληστερολαιμία και/ή η υπερτριγλυκεριδαιμία [161-

163]. Επίσης αυξάνονται σε διαβητικούς ασθενείς [164-166] αλλά και σε μη διαβητικούς με αντίσταση στην ινσουλίνη [167, 168].

Σε υγιή άτομα το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα στεφανιαίων συμβαμάτων ακόμα και μετά από στάθμιση για κλασικούς παράγοντες κινδύνου και άλλους δείκτες φλεγμονής (π.χ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) [169-172], ενώ δεν συνέβαινε το ίδιο με τα επίπεδα της E- και P-Σελεκτίνης και του αγγειακού κυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 [169-171]. Σε υγιείς γυναίκες από τη μελέτη WHS τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 σχετίζονταν με την επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων παρότι η συσχέτιση αυτή χάνονταν μετά τη στάθμιση για τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου και άλλους φλεγμονώδεις δείκτες [124]. Στην ίδια μελέτη μάλιστα τα αυξημένα επίπεδα P-Σελεκτίνης αποτελούσαν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα στεφανιαίων συμβαμάτων [173].

Σε ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο μόνο το αγγειακό μόριο προσκόλλησης 1 (και όχι η E-Σελεκτίνη και το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1) σχετίζονταν με την καρδιαγγειακή θνητότητα μετά από στάθμιση για διάφορους συγγενικούς παράγοντες [174-176]. Σε άλλες μελέτες ασθενών με γνωστή στεφανιαία νόσο στις οποίες όμως δεν μετρήθηκε το αγγειακό μόριο προσκόλλησης 1, το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 αποτελούσε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων [150, 177]. Η προγνωστική αξία των αυξημένων επιπέδων P-Σελεκτίνης στην καρδιαγγειακή πρόγνωση ασθενών με γνωστή αθηρωματική νόσο δεν έχει ξεκαθαριστεί καθώς οι διάφορες μελέτες δείχνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα [176, 178, 179].

Τα αυξημένα επίπεδα των μορίων προσκόλλησης στο αίμα θεωρείται ότι αποτελούν και καλούς δείκτες της έκτασης και βαρύτητας της αθηροσκλήρωσης. Τόσο το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 όσο και το αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 έχουν συσχετιστεί με την έκταση της περιφερικής αθηρωματικής νόσου [180, 181]. Εντούτοις, νεότερες μελέτες δείχνουν ότι το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 (σε σχέση με το αγγειακό μόριο προσκόλλησης 1) είναι πιο σημαντικός δείκτης στην πρόγνωση της εμφάνισης και έκτασης της αθηρωματικής νόσου σε άτομα χωρίς γνωστή αθηρωμάτωση [182, 183].

Στα οξεία στεφανιαία σύνδρομα παρατηρείται αύξηση των επιπέδων όλων των μορίων προσκόλλησης [184-188], τα οποία φαίνεται να διατηρούνται σε υψηλά επίπεδα για εβδομάδες έως και μήνες μετά την υποχώρηση των κλινικών συμπτωμάτων και να επιστρέφουν στα επίπεδα φυσιολογικών ατόμων μετά από περίπου 6 μήνες [189]. Το αγγεια-

κό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 είναι το μόνο μόριο προσκόλλησης που έχει αποδειχτεί ότι σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων μετά από 6 μήνες από οξύ στεφανιαίο επεισόδιο [179]. Από την άλλη σε ασθενείς με ύποπτο στηθαγχικό πόνο η αύξηση της P-Σελεκτίνης (σε αντίθεση με την E-Σελεκτίνη, το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 και το αγγειακό μόριο προσκόλλησης 1) προβλέπει την εμφάνιση σοβαρών καρδιακών συμβαμάτων [190] και παρουσιάζει την ίδια προγνωστική ικανότητα με την τροπονίνη και την κινάση της κρεατίνης στην αναγνώριση ατόμων με οξεία στεφανιαία επεισόδια [191].

Φαίνεται λοιπόν ότι σε υγιή άτομα το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 σχετίζεται με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου και θεωρείται ότι παρέχει προγνωστικές πληροφορίες παρόμοιες με αυτές της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στην πρωτογενή πρόληψη. Αντιθέτως το αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 αποτελεί έναν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου σε ασθενείς με προϋπάρχουσα νόσο (**Πίνακας 2.2**) [150].

Πίνακας 2.2. Διαλυτές μορφές μορίων προσκόλλησης και πρόγνωση καρδιαγγειακού κινδύνου [150]

Πληθυσμός	Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1	Αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1	E-Σελεκτίνη	P-Σελεκτίνη
Υγιή άτομα	++	-	+	+
Ασθενείς υψηλού κινδύνου ή με γνωστή στεφανιαία νόσο	++	+++	+	+
Οξεία στεφανιαία σύνδρομα	+	+++	+	++

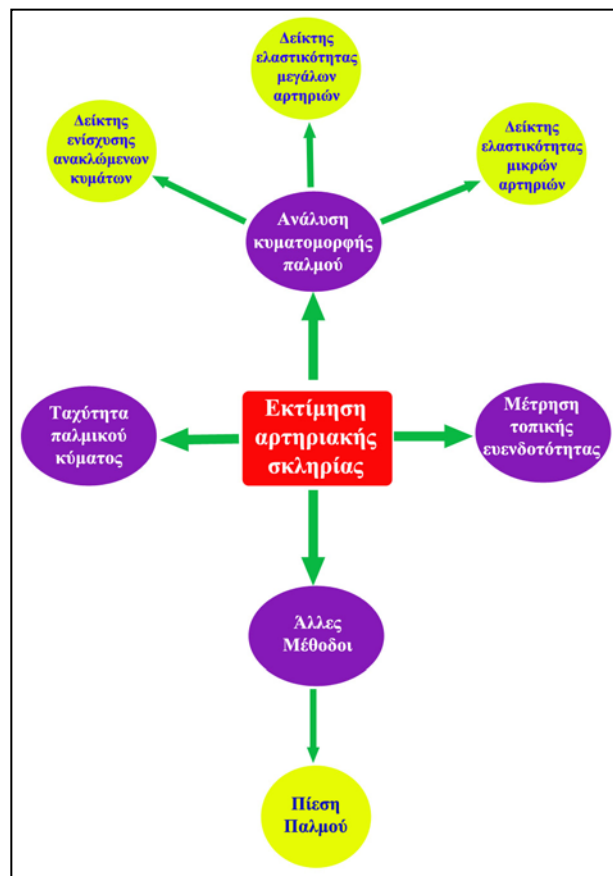
+++ , ισχυρές αποδείξεις, ++, μέτριες αποδείξεις, +, ασθενείς αποδείξεις, -, καθόλου αποδείξεις

2.4 Αρτηριακή σκληρία (*arterial stiffness*)

Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στο ρόλο της αρτηριακής σκληρίας στην ανάπτυξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η αρτηριακή σκληρία/ελαστικότητα εξαρτάται από την ύπαρξη δυο σημαντικών πρωτεϊνών: της ελαστίνης και του κολλαγόνου στη δομή του τοιχώματος των αγγείων. Η σκλήρυνση των αρτηριών που σχετίζεται με την ηλικία και την επίδραση άλλων γνωστών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου προκαλείται από την κατάτμηση των ινών ελαστίνης, τη συσσώρευση κολλαγόνου, τη νέκρωση λείων μυϊκών κυττάρων του μέσου χιτώνα, την εμφάνιση ίνωσης, φλεγμονής και ασβέστωσης

στο αρτηριακό τοίχωμα [192]. Η αύξηση της αρτηριακής σκληρίας μπορεί να προκαλέσει την πρόωμη επιστροφή των ανακλώμενων σφυγμικών κυμάτων από την περιφέρεια στην αορτή κατά τη συστολική φάση, αυξάνοντας την κεντρική πίεση παλμού και την κεντρική συστολική πίεση. Η αύξηση της συστολικής πίεσης της αορτής αυξάνει το μεταφόρτιο της αριστερής κοιλίας, οδηγεί σε υπερτροφία της αριστερής κοιλίας και αυξάνει τις ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο. Επιπλέον η αύξηση της κεντρικής πίεσης παλμού και η μείωση της κεντρικής διαστολικής πίεσης σχετίζεται με την εμφάνιση υπενδοκαρδιακής ισχαιμίας [193].

Έχουν προταθεί αρκετές μέθοδοι για την ποσοτικοποίηση των μηχανικών ιδιοτήτων των αρτηριών (Εικόνα 2.13) [194]. Η μέτρηση της ταχύτητας παλμικού κύματος θεωρείται η πιο απλή, μη επεμβατική και επαναλήψιμη μέθοδος προσδιορισμού της αρτηριακής σκληρίας. Η καρωτιδο-μηριαία ταχύτητα παλμικού κύματος (carotid-femoral pulse wave velocity, *PWVcf*) αποτελεί το ‘χρυσό κανόνα’ μεταξύ των διαφόρων μεθόδων εκτίμησης της αρτηριακής σκληρίας και αποτελεί το πηλίκο της απόστασης μεταξύ της δεξιάς κοινής καρωτίδας και δεξιάς μηριαίας αρτηρίας διά το χρόνο που απαιτείται από το παλμικό κύμα για να ‘ταξιδέψει’ από την καρωτίδα στη μηριαία αρτηρία. Η τοπική αρτηριακή σκληρία επιφανειακών αρτηριών, όπως η κοινή καρωτίδα, εκτιμάται με τη χρήση υπερήχων ή μαγνητικής τομογραφίας και τον καθορισμό των μεταβολών του όγκου στα αγγεία επί συγκεκριμένων μεταβολών των πιέσεων. Ωστόσο οι τεχνικές αυτές απαιτούν εξαιρετική εμπειρία και εξειδίκευση και είναι πιο χρονοβόρες σε σχέση με την μέτρηση της ταχύτητας του παλμικού κύματος. Πιο πρόσφατα αναπτύχθηκαν μέθοδοι μη επεμβατικές για τον προσδιορισμό της συστηματικής σκληρίας έμμεσα μέσω της ανάλυσης των ανακλάσεων κατά τη διαστολική φάση του παλμού στην κερκιδική αρτηρία και τον προσδιορισμό δεικ-



Εικόνα 2.13. Οι πιο συχνές μέθοδοι εκτίμησης της αρτηριακής σκληρίας [194]

την μέτρηση της ταχύτητας του παλμικού κύματος. Πιο πρόσφατα αναπτύχθηκαν μέθοδοι μη επεμβατικές για τον προσδιορισμό της συστηματικής σκληρίας έμμεσα μέσω της ανάλυσης των ανακλάσεων κατά τη διαστολική φάση του παλμού στην κερκιδική αρτηρία και τον προσδιορισμό δεικ-

τών ελαστικότητας των μικρών (small artery elasticity index, *C2*) και μεγαλύτερων αρτηριών (large artery elasticity index, *C1*). Η μέτρηση του δείκτη ενίσχυσης του παλμικού κύματος (augmentation index, *AIx*) στην αορτή καθώς και των κεντρικών πιέσεων εκτιμά τόσο τα ανακλώμενα κύματα από την περιφερική κυκλοφορία όσο και την αορτική σκληρία και προσδιορίζεται από την ανάλυση της κυματομορφής του παλμού τόσο κεντρικά (π.χ. καρωτίδα) όσο και σε περιφερικά αγγεία (π.χ. κερκιδική αρτηρία) με τη χρήση ειδικών αλγορίθμων μετασχηματισμού [193].

Η ηλικία [195, 196] και η υπέρταση [195, 197] θεωρούνται οι δυο πιο σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν την αρτηριακή σκληρία. Ωστόσο, όλοι οι κλασικοί και νεότεροι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η παχυσαρκία [198], το κάπνισμα [199], η υπερχοληστερολαιμία [200], η διαταραχή ανοχής της γλυκόζης [201], το μεταβολικό σύνδρομο [198], ο σακχαρώδης διαβήτης [201] και η αυξημένη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη [202] έχουν συσχετιστεί με αυξημένους δείκτες αρτηριακής σκληρίας και ανακλώμενων κυμάτων. Ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως η στεφανιαία νόσος [203] και η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια [204], αλλά και μη πρωτογενή καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως η νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου [205, 206] και τα συστηματικά φλεγμονώδη νοσήματα [207, 208], εμφανίζουν αυξημένη αρτηριακή σκληρία σε σχέση με υγιή άτομα. Η καρωτιδο-μηριαία ταχύτητα σφυγμικού κύματος αποτελεί έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της ολικής και καρδιαγγειακής θνητότητας και μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με υπέρταση [203, 209], σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [210], τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια [205, 211] αλλά και στο γενικό πληθυσμό [212, 213]. Η προγνωστική αξία της αορτικής ταχύτητας παλμικού κύματος παραμένει σημαντική ακόμη και μετά τη στάθμιση για τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και το δείκτη κινδύνου κατά Framingham [203, 214]. Επιπλέον, η κεντρική πίεση παλμού και ο δείκτης ενίσχυσης του παλμικού κύματος στην αορτή αποτελούν επίσης ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της ολικής θνητότητας σε ασθενείς τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας [206] καθώς και των καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με υπέρταση [215] ή προηγηθείσα αγγειοπλαστική στεφανιαίων αγγείων [216]. Ωστόσο, στο γενικό πληθυσμό (μελέτη Framingham), κανένας από τους δυο αυτούς δείκτες δεν εμφάνιζε κάποια προγνωστική αξία για τον καρδιαγγειακό κίνδυνο [214].

2.5 Υποκλινική δομική αθηρωματική νόσος - Πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων (carotid intima-media thickness, *IMT*)

Η μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων με τη χρήση δισδιάστατης υπερηχογραφίας είναι μια μη επεμβατική τεχνική η οποία παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία για την αναγνώριση και ποσοτικοποίηση υποκλινικής δομικής αγγειακής νόσου και την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η αθηρωματική νόσος των αγγείων αρχίζει κατά την παιδική ηλικία και εξελίσσεται στη διάρκεια των επόμενων δεκαετιών στη ζωή των ασθενών [217]. Η συμπτωματική, κλινική καρδιαγγειακή νόσος εκδηλώνεται όταν η αθηροσκλήρωση οδηγεί σε σημείο που παρεμποδίζεται η ροή στα αγγεία και προκαλούνται συμπτώματα ισχαιμίας ή όταν δημιουργείται θρόμβος πάνω σε μια προϋπάρχουσα πλάκα ως αποτέλεσμα της διάβρωσης ή ρήξης της πλάκας [218]. Παρά το γεγονός ότι όλοι οι ασθενείς με υποκλινική αθηρωματική νόσο δεν θα οδηγηθούν σε κλινικά νόσο, είναι γενικά αποδεκτό ότι όσο πιο σοβαρή είναι η υποκλινική αθηρωματική νόσος τόσο πιο υψηλός ο κίνδυνος για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων [219-221].

Το αυξημένο πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων αναπαριστά την υπερτροφία του έσω ή μέσου χιτώνα ή και των δυο και πιθανόν αποτελεί προσαρμοστική απόκριση του αγγείου σε μεταβολές της ροής, της τάσης στο αγγειακό τοίχωμα ή της διαμέτρου του αγγείου [222]. Είναι γνωστό ότι αυξάνεται προϊούσης της ηλικίας ανεξάρτητα από την ύπαρξη υποκείμενης αθηροσκλήρωσης και παρουσιάζει αύξηση κατά 3 φορές περίπου μεταξύ των ηλικιών των 20 και 90 ετών [223]. Μελέτες νεκροψίας έχουν δείξει ότι η ηλικιοεξαρτώμενη αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα οφείλεται κυρίως σε μεταβολές του έσω χιτώνα των αγγείων [224]. Σε πειραματόζωα έχει δειχτεί ότι οι μεταβολές του πάχους έσω-μέσου χιτώνα με την ηλικία παρουσιάζουν παρόμοιες παθοφυσιολογικές διεργασίες με αυτές που συναντώνται κατά την εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου, όπως η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η αύξηση των μορίων προσκόλλησης και άλλων προθρομβωτικών, αγγειοσυσταλτικών και προ-φλεγμονωδών μορίων, η αύξηση του οξειδωτικού στρες, η υπερπλασία και μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων [225, 226]. Επομένως, η πάχυνση του έσω-μέσου χιτώνα των αρτηριών σχετίζεται στενά με την αθηρωμάτωση των αγγείων αλλά δεν είναι και ταυτόσημη διαδικασία με αυτή [227].

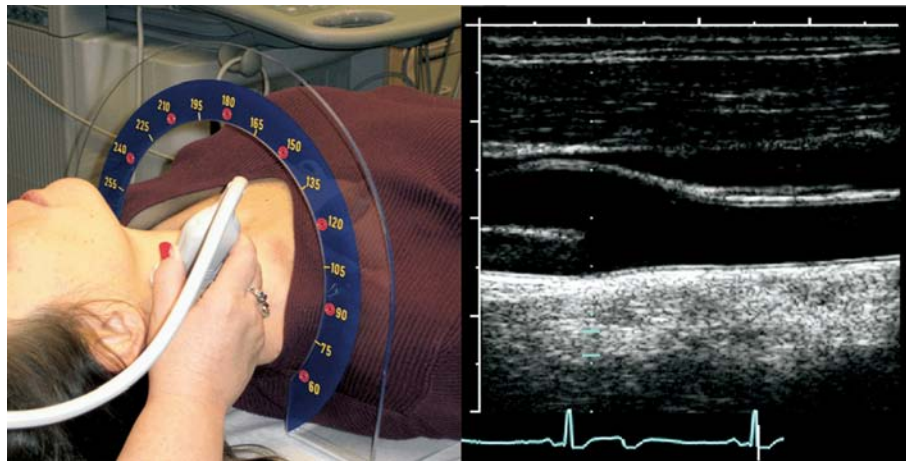
Σε νέους και σχετικά υγιείς ασθενείς φαίνεται ότι υπάρχει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων με το συνολικό φορτίο παραγόντων

καρδιαγγειακού κινδύνου [228-232]. Επιπλέον, σε αρκετές προοπτικές μελέτες το αυξημένο πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων και θανάτου στο γενικό πληθυσμό [219, 220, 233-236]. Φαίνεται μάλιστα ότι το πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων προσδίδει επιπλέον προγνωστικές πληροφορίες σε σχέση με τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου για την παρουσία σημαντικής αγγειογραφικής και κλινικής στεφανιαίας νόσου [237, 238]. Ωστόσο, σε μια πιο πρόσφατη μεγάλη μελέτη στο γενικό πληθυσμό η μέτρηση του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων παρότι ήταν ανεξάρτητος παράγοντας πρόγνωσης καρδιαγγειακού κινδύνου δεν προσέφερε κάποια σημαντική επιπλέον πληροφορία στη διαστρωμάτωση του καρδιαγγειακού κινδύνου πέραν των κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [239].

Η μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων θεωρείται σήμερα εξαιρετικά χρήσιμη για την περαιτέρω διαστρωμάτωση του καρδιαγγειακού κινδύνου σε ασθενείς ενδιάμεσου κινδύνου (δείκτης κινδύνου κατά Framingham 10-20% χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο). Ασθενείς με τα παρακάτω χαρακτηριστικά μπορούν επίσης να επωφελοούνται από τη μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων: 1) οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου σε συγγενή πρώτου βαθμού, 2) άτομα <60 ετών με εκσεσημασμένη διαταραχή ενός μόνο παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου (π.χ. γενετική δυσλιπιδαιμία), 3) γυναίκες <60 ετών με τουλάχιστον δυο παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Δεν συνιστώνται η μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων σε ασθενείς με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο καθώς και οι επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την παρακολούθηση της εξέλιξης του πάχους έσω-μέσου χιτώνα στην κλινική πράξη [227].

Η μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων γίνεται με τη βοήθεια ενός συστήματος υπερήχων υψηλής ευκρίνειας και τη χρήση ηχοβολέα γραμμικής ακτίνας υπερήχων με συχνότητες >7 MHz. Το υπό εξέταση άτομο συνδέεται πάντα με ηλεκτρόδια για την παράλληλη καταγραφή και αποθήκευση του ηλεκτροκαρδιογραφήματος επιφανείας (**Εικόνα 2.14**). Αρχικά γίνεται λήψη εγκάρσιων δισδιάστατων εικόνων κατά το εγγύς τμήμα της κοινής καρωτίδας και ακολούθως ο ηχοβολέας κινείται σταδιακά προς την κεφαλή μέχρι το μέσον περίπου της έσω καρωτίδας, ενώ το αγγείο διατηρείται πάντα στη μέση της εικόνας και απεικονίζονται τόσο στο εγγύς όσο και στο άπω τοίχωμα τα όρια του έσω-μέσου χιτώνα. Έπειτα, ο ηχοβολέας στρέφεται 90° ώστε να πάρουμε επιμήκη εικόνα του αγγείου και η βέλτιστη θέση απεικόνισης ορίζεται ως η θέση στην οποία φαίνονται ξεκάθαρα ο καρωτιδικός βολβός, ο διχασμός της έσω και έξω καρωτίδας καθώς και το άπω

τιμήμα της κοινής καρωτίδας. Είναι σημαντικό για τη διενέργεια σωστών μετρήσεων να απεικονίζονται σαφώς τα όρια του έσω-μέσου χιτώνα τόσο στο εγγύς όσο και στο άπω τοίχωμα του αγγείου (σημείο ‘διπλής γραμμής’ – ‘double line’ sign). Στη θέση βέλτιστης α-



Εικόνα 2.14. Θέση ασθενούς για τη μέτρηση του πάχους-έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων (αριστερά). Η βέλτιστη θέση απεικόνισης της καρωτίδας (σημείο ‘διπλής γραμμής’) (δεξιά) [227].

πεικόνισης συστήνεται η αποθήκευση εικόνων διάρκειας 3-5 καρδιακών κύκλων ενώ προτείνεται επίσης η λήψη της ίδιας τομής του αγγείου και από δυο άλλες γωνίες, εμπροσθεν και όπισθεν της αρχικής εικόνας κατά 45° . Συστήνεται επίσης στα πλαίσια της εξέτασης, η διενέργεια παλμικού Doppler στο εγγύς 1 cm της έσω και έξω καρωτίδας και ο ενδεδειγμένος έλεγχος για την παρουσία αθηρωματικών πλακών στα διάφορα τμήματα των μελετώμενων αγγείων [227]. Ως καρωτιδική πλάκα ορίζεται μια περιοχή του αγγείου με τουλάχιστον 50% μεγαλύτερο πάχος τοιχώματος σε σχέση με το γειτονικό τοίχωμα ή πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων >1.5 mm. Η συνδυασμένη μελέτη του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων και των πλακών δίνει περισσότερες πληροφορίες για την ύπαρξη υποκλινικής αθηρωματικής νόσου και παρουσιάζει μεγαλύτερη προγνωστική αξία στην εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου [240, 241].

Οι μετρήσεις γίνονται πάντα στο άπω τοίχωμα των αγγείων τελοδιαστολικά όπως καθορίζεται από την κορυφή του R κύματος στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Συστήνεται πάντα η χρήση ημιαυτόματων μεθόδων μέτρησης του πάχους έσω-μέσου χιτώνα με αυτόματο καθορισμό των ορίων από ειδικό λογισμικό υλικό και χειροκίνητη τροποποίηση των ορίων αυτών από το χειριστή όπου χρειαστεί. Οι μετρήσεις του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα γίνονται σε διάφορες θέσεις των απεικονιζόμενων αγγείων, όπως η εγγύς έσω καρωτίδα, ο καρωτιδικός βολβός και η άπω κοινή καρωτίδα ανάλογα με το πρωτόκολλο της με-

λέτης και την εμπειρία του χειριστή. Σε κάθε περίπτωση στα αποτελέσματα αναφέρονται οι μέσες τιμές του πάχους έσω-μέσου χιτώνα της δεξιάς και αριστερής κοινής καρωτίδας καθώς είναι οι πιο επαναλήψιμες μετρήσεις [227].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακός κίνδυνος

3.1 Ορισμοί

Η εμμηνόπαυση είναι όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει την οριστική διακοπή της ωοθηκικής λειτουργίας και των κύκλων εμμήνου ρύσεως στη γυναίκα. Ο χρονικός προσδιορισμός της εμμηνόπαυσης γίνεται αναδρομικά μετά από ένα έτος αμηνόρροιας. Η χρονική περίοδος μετάβασης στην εμμηνόπαυση (menopausal transition) αρχίζει από τη στιγμή της εμφάνισης των πρώτων μεταβολών του κύκλου των γυναικών με ταυτόχρονη σταδιακή και συνεχή αύξηση της θυλακιοτρόπου ορμόνης και τελειώνει με την τελευταία έμμηνο ρύση [242]. Ο όρος ‘*πριεμμηνόπαυση*’ (ή κλιμακτήριος) σημαίνει κυριολεκτικά το χρονικό διάστημα γύρω από την εμμηνόπαυση και αρχίζει ταυτόχρονα με την έναρξη της μεταβατικής περιόδου στην εμμηνόπαυση ενώ τελειώνει ένα έτος μετά την τελευταία έμμηνο ρύση [243]. Η μέση ηλικία έναρξης της μεταβατικής περιόδου στην εμμηνόπαυση είναι τα 47 έτη και η διάρκειά της περίπου 4 έτη έτσι ώστε η εμμηνόπαυση να εμφανίζεται περίπου σε ηλικία 51 ετών. Τέλος, ως ‘*πρόσφατη εμμηνόπαυση*’ (early menopause) ορίζεται η χρονική περίοδος των πρώτων 5 ετών από την τελευταία έμμηνο ρύση (**Εικόνα 3.1**) [242].

3.2 Ενδοκρινολογικές μεταβολές κατά την μετάβαση στην εμμηνόπαυση

Τα φυσικά οιστρογόνα που παράγονται στη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας είναι η 17β-οιστραδιόλη, η οιστρόνη και η οιστριόλη. Η οιστραδιόλη, το βασικό οιστρογόνο του γυναικείου οργανισμού, παράγεται από τα κοκκιώδη κύτταρα (granu-

lose cells) και τα κύτταρα θήκης (theca cells) των ωοθηκών. Κατά τη διάρκεια των κύκλων εμμήνου ρύσεως τα επίπεδα της οιστραδιόλης παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πριν την ωοθυλακιορρηξία. Η ρύθμιση της παραγωγής της οιστραδιόλης στην αναπαραγωγική περίοδο της γυναίκας γίνεται από την έκκριση των γοναδοτροφινών, της θυλακιοτρόπου (follicle-stimulating hormone, *FSH*) και της ωχρινοτρόπου (luteinizing hormone, *LH*) ορμόνης. Η θυλακιοτρόπος ορμόνη είναι υπεύθυνη

Τελευταία έμμηνος ρύση					
Στάδια	Περίοδος μετάβασης στην εμμηνόπαυση		Εμμηνόπαυση		
	Πρώιμη	Όψιμη*	Πρώιμη* (πρόσφατη)	Όψιμη	
	Περιεμμηνόπαυση				
Διάρκεια σταδίων	Ποικίλει		1 έτος	4 έτη	Απροσδιόριστη
Κύκλοι εμμήνου ρύσεως	Κύκλος ποικίλου μήκους (>7 ημέρες διαφορά με το φυσιολογικό κύκλο)	≥2 χαμένοι κύκλοι και αμηνόρροια (≥60 ημέρες)	12 μήνες αμηνόρροια	Οριστική διακοπή κύκλων εμμήνου ρύσεως	
Ενδοκρινολογικές μεταβολές	Αύξηση θυλακιοτρόπου ορμόνης		Αύξηση θυλακιοτρόπου ορμόνης		

Εικόνα 3.1. Διαδοχικά χρονολογικά στάδια μετάβασης στην εμμηνόπαυση [245].

*Στάδια τα οποία χαρακτηρίζονται από την παρουσία αγγειοκινητικών συμπτωμάτων

για την παραγωγή της οιστραδιόλης μέσω της επαγωγής των ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση των στεροειδών ορμονών, ενώ τα αυξημένα επίπεδα της οιστραδιόλης μέσω αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (negative feedback) οδηγούν σε μείωση των επιπέδων θυλακιοτρόπου ορμόνης [244]. Η προοδευτική εμφάνιση της ωοθηκικής ανεπάρκειας στη γυναίκα αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα εμφάνισης των ορμονικών μεταβολών κατά την περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση με τελική κατάληξη την αύξηση της θυλακιοτρόπου ορμόνης και τη μείωση της οιστραδιόλης [245].

Η αύξηση των επιπέδων της θυλακιοτρόπου ορμόνης αρχίζει πρώιμα στην περίοδο της μετάβασης στην εμμηνόπαυση πιθανόν λόγω μείωσης των ανασταλτικών σημάτων στον υποθάλαμο και την υπόφυση. Η αυξημένη παραγωγή της θυλακιοτρόπου ορμόνης δεν φαίνεται να σχετίζεται τόσο με τα μειωμένα επίπεδα των ωοθηκικών οιστρογόνων, όπως πιστευόνταν στο παρελθόν, αλλά με τη μειωμένη παραγωγή των ανασταλτικών μο-

ρίων ινχιμπίνη A και B (inhibins A & B) από τις ανεπαρκείς ωοθήκες [246]. Η προοδευτική ελάττωση της παραγωγής των ινχιμπινών κατά την περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση οδηγεί τελικά σε αυξημένη παραγωγή θυλακιοτρόπου ορμόνης [247]. Τιμές θυλακιοτρόπου ορμόνης >25 IU/L είναι ενδεικτικές της μεταβατικής περιόδου στην εμμηνόπαυση.

Η μείωση των επιπέδων της οιστραδιόλης, η οποία αποτελεί το κύριο ενδογενές οιστρογόνο κατά την αναπαραγωγική ηλικία της γυναίκας, δεν εμφανίζεται αρχικά στην περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση αλλά γίνεται εμφανής μόνο στα τελικά στάδια κοντά στην τελευταία έμμηνο ρύση. Αντιθέτως, στα αρχικά στάδια της περιόδου μετάβασης στην εμμηνόπαυση η αυξημένη παραγωγή θυλακιοτρόπου ορμόνης από την υπόφυση οδηγεί αντίστοιχα σε αυξημένη παραγωγή οιστραδιόλης και μάλιστα σε επίπεδα υψηλότερα ακόμη και από αυτά που παρατηρούνται σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας <35 ετών [243, 246]. Τελικά πλησιάζοντας προς την τελευταία έμμηνο ρύση η οιστραδιόλη μειώνεται στα επίπεδα που παρατηρούνται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (<20 pg/ml) [244].

Άλλες ορμονικές μεταβολές κατά την περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση είναι η μείωση των ωοθηκικών ανδρογόνων, δηλαδή της τεστοστερόνης και της ανδροστενοδιόνης (androstenedione), τα οποία θεωρείται ότι μειώνονται σταδιακά κατά τη διάρκεια των αναπαραγωγικών χρόνων της γυναίκας αλλά παρουσιάζουν την πιο έκδηλη πτώση των επιπέδων τους λίγο πριν την τελευταία έμμηνο ρύση [248, 249]. Μικρές μεταβολές παρατηρούνται και στα επίπεδα της φυλοσυνδετικής σφαιρίνης (sex hormone binding globulin, *SHBG*), μιας πρωτεΐνης που συνδέεται με τις ορμόνες του φύλου στο αίμα, χωρίς όμως να συνοδεύονται από κάποια σημαντική μεταβολή στο δείκτη ελεύθερων ανδρογόνων [250].

3.3 Κλινικές επιπτώσεις των φυσιολογικών αλλαγών κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση

Οι ορμονικές μεταβολές που συντελούνται κατά την περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση οδηγούν σε μια σειρά κλινικών συμπτωμάτων με πρώτο και κύριο τις μεταβολές στους κύκλους εμμήνου ρύσεως. Η διαταραχή ενός σταθερού προγραμματισμένου κύκλου στις γυναίκες είναι η πιο σημαντική μεταβολή κατά τη διάρκεια της μετάβασης

στην εμμηνόπαυση αφού γίνεται άμεσα αντιληπτό από τη γυναίκα και μπορεί να δώσει πληροφορίες που αφορούν το χρονικό διάστημα που απομένει μέχρι την εμμηνόπαυση. Οι κύκλοι χωρίς ωορρηξία γίνονται όλο και πιο συχνοί στις γυναίκες που πλησιάζουν προς την τελευταία έμμηνο ρύση. Συνεπώς, γυναίκες οι οποίες δεν έχουν εμφανίσει έμμηνο ρύση για >3 και <12 κύκλους είναι πολύ πιθανόν να ολοκληρώσουν τη μεταβατική περίοδο προς την εμμηνόπαυση εντός των επόμενων 4 ετών [251]. Αντιθέτως γυναίκες με κύκλους >42 ημερών είναι πιθανό να εισέλθουν σε εμμηνοπαυσιακή κατάσταση ακόμη πιο νωρίς, ίσως και εντός των επομένων 12 μηνών [252].

Παράλληλα με τις εμφανείς μεταβολές του κύκλου εμμήνου ρύσεως η περίοδος μετάβασης στην εμμηνόπαυση σχετίζεται με την εμφάνιση και άλλης υποκλινικής ή/και κλινικά εμφανούς συμπτωματολογίας. Στα αρχικά στάδια της περιεμμηνόπαυσης εμφανίζονται μη ειδικά υποκλινικά συμπτώματα όπως μια απροσδιόριστη ευερεθιστότητα και νευρικότητα [253], ημικρανίες που συνοδεύουν την έμμηνο ρύση [254], αναφερόμενες διαταραχές μνήμης και ύπνου [243], καθώς και συμπτώματα που συνδέονται άμεσα με την υπεροιστρογοναιμία της πρώτης φάσης της περιεμμηνόπαυσης, όπως η ευαισθησία των μαστών [255]. Με την πρόοδο της περιεμμηνόπαυσης και την εμφάνιση της υποοιστρογοναιμίας παρουσιάζονται τα πιο γνωστά συμπτώματα που σχετίζονται με την περιεμμηνόπαυση και την εμμηνόπαυση, όπως είναι οι εξάψεις και οι νυχτερινές εφιδρώσεις (αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα – vasomotor symptoms) και η ξηρότητα του κόλπου [255]. Ωστόσο η περιεμμηνόπαυση και η εμμηνόπαυση έχουν συσχετιστεί και με την παρουσία πολλών άλλων μη ειδικών και λιγότερο συχνών συμπτωμάτων όπως : αίσθημα καρδιακών παλμών, άγχος, αιφνίδιες εναλλαγές διάθεσης, διαταραχές ύπνου (με ή χωρίς νυχτερινές εφιδρώσεις), μελαγχολία, αίσθημα πανικού, μειωμένη σεξουαλική επιθυμία, προβλήματα με την ουροδόχο κύστη (συχνουρία, ακράτεια), αρθραλγίες κ.α. Σε κάθε περίπτωση δεδομένου της συσχέτισης αυτών των συμπτωμάτων και με άλλες παθολογικές καταστάσεις όπως ο υποθυρεοειδισμός, ο σακχαρώδης διαβήτης, το καρκινοειδές σύνδρομο, το φαιοχρωμοκύττωμα και οι καταθλιπτικές διαταραχές πρέπει να διενεργείται έλεγχος για τον αποκλεισμό αυτών των καταστάσεων πριν τα συμπτώματα αυτά αποδοθούν στην εμμηνόπαυση [256].

3.3.1 Αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα - Εξάψεις

Οι εξάψεις (hot flushes) αποτελούν τα πλέον χαρακτηριστικά και πιο συχνά συμπτώματα των περιεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών καθώς εμφανίζονται περίπου στο 80% των γυναικών, ενώ στο 10–20 % των γυναικών είναι ιδιαίτερα έντονα ώστε να αναζητηθεί ιατρική βοήθεια για την αντιμετώπισή τους [256]. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων τα συμπτώματα διαρκούν για ένα έτος ή λιγότερο, ενώ το ένα τρίτο των εμμηνοπαυσιακών γυναικών αναφέρει ότι τα συμπτώματα εμμένουν μέχρι και 5 έτη μετά τη φυσική εμμηνόπαυση [257]. Οι εξάψεις εμφανίζονται οποιαδήποτε στιγμή της ημέρας ή της νύχτας και πυροδοτούνται από ποικίλες καταστάσεις όπως η συναισθηματική φόρτιση, το άγχος, η απότομη αλλαγή της θερμοκρασίας, η λήψη αλκοόλ, καφεΐνης ή και άλλων ζεστών ποτών. Η διάρκεια των συμπτωμάτων ποικίλει από 30 δευτερόλεπτα έως και 60 λεπτά με μέση διάρκεια τα 3–4 λεπτά [256].

Αρκετοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με την αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης εξάψεων σε περιεμμηνοπαυσιακές και εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Πίνακας 3.1). Οι εξάψεις φαίνεται είναι πιο συχνές σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλές συγκεντρώσεις οιστραδιόλης ή οιστρονής σε σύγκριση με γυναίκες που έχουν υψηλά επίπεδα οιστρογόνων [258]. Παρότι θεωρούνταν ότι οι λιποβαρείς γυναίκες εμφάνιζαν εξάψεις πιο συχνά [259], μια πρόσφατη ανάλυση της πολυκεντρικής μελέτης SWAN (Study of Women's Health Across the Nation) έδειξε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ αυξημένου ποσοστού λίπους σώματος και εμφάνισης αγγειοκινητικών συμπτωμάτων στην εμμηνόπαυση [260]. Επιπλέον γυναίκες που δεν ασκούνται ή ασκούνται λίγο καθώς και οι καπνίστριες παρουσιάζουν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης εξάψεων στην εμμηνόπαυση [261]. Τέλος, οι γυναίκες οι οποίες μπαίνουν στην εμμηνόπαυση σε νεαρή ηλικία [262] και όσες υποβάλλονται σε χειρουργική εμμηνόπαυση [263] είναι πιο πιθανόν να εμφανίσουν πιο έντονες και μεγαλύτερης διάρκειας εξάψεις σε σχέση με γυναίκες σε φυσική εμμηνόπαυση στην αναμενόμενη ηλικία των 50 ετών.

Πίνακας 3.1. Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης εξάψεων [256].

Χαμηλή συγκέντρωση κυκλοφορούντων οιστρογόνων
Χαμηλό βάρος γέννησης
Έλλειψη άσκησης
Κάπνισμα
Φυλετικές διαφορές (Αφροαμερικανοί)
Χαμηλό κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο
Χαμηλό επίπεδο μόρφωσης
Εμμηνόπαυση σε νεαρή ηλικία
Αιφνίδια εμμηνόπαυση
Χειρουργική
Χημειοθεραπεία
Ακτινοβολία
Φαρμακευτική

Το κυρίαρχο χαρακτηριστικό των εξάψεων είναι η αιφνίδια αίσθηση ενός κύματος θερμότητας κυρίως στο πρόσωπο, τον τράχηλο και το άνω μέρος του κορμού [256, 264]. Ωστόσο, η θερμοκρασία φαίνεται να μεταβάλλεται σε ένα μεγάλο μέρος του σώματος, όπως στα δάκτυλα των άνω και κάτω άκρων, και παρατηρείται αύξηση από τους 20°C στους 33°C, όπως καταδεικνύεται με τη χρήση θερμογραφίας. Αποτέλεσμα της αύξησης της θερμοκρασίας στην περιφέρεια του σώματος είναι η πτώση της κεντρικής θερμοκρασίας όπως καταγράφεται στο ορθό και το ωτικό τύμπανο [265-267]. Παρότι η θερμοκρασία περιφερικά παραμένει υψηλή για αρκετά λεπτά το αίσθημα της έξαψης φαίνεται να κρατά μόνο κατά την άνοδο της θερμοκρασίας [264]. Η αύξηση της θερμοκρασίας στην περιφέρεια οφείλεται σε αιφνίδια αγγειοδιαστολή, όπως έχει δείχτει από μελέτες πληθυσμογραφίας στα άκρα [264, 267]. Επιπλέον χαρακτηριστικό γνώρισμα των εξάψεων αποτελεί μια ταχεία και παρατεταμένη πτώση της ηλεκτρικής αντίστασης του δέρματος κάτι που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαφοροδιαγνωστικό σημείο για το διαχωρισμό εξάψεων που οφείλονται σε άλλες παθολογικές καταστάσεις (Πίνακας 3.2) [268].

Οι εξάψεις θεωρείται ότι συμβαίνουν ως αποτέλεσμα διαταραχών του θερμορυθμιστικού μηχανισμού που βρίσκεται στον υποθάλαμο [264]. Η ορμονική βάση αυτών των διαταραχών φαίνεται η πιο πιθανή σε συνάρτηση βέβαια με τη χρονική συσχέτιση της εμφάνισης των εξάψεων με την κλιμακτήριο καθώς και την κλινική αποτελεσματικότητα

Πίνακας 3.2. Διαφορική διάγνωση εξάψεων [256].

Συστηματικά νοσήματα

- Καρκινοειδές σύνδρομο
- Μαστοκύτωση
- Μυελοειδής καρκίνος θυρεοειδούς αδένα
- Καρκίνος παγκρέατος
- Φαιοχρωμοκύτωμα
- Καρκίνος νεφρού

Νευρολογικά νοσήματα

- Άγχος
- Όγκοι εγκεφάλου
- Ημικρανίες
- Νόσος Parkinson's
- Βλάβες νωτιαίου μυελού

Φάρμακα

- Αλκοόλη
- Αναστολείς αρωματάσης
- Βρωμοκρυπτίνη
- Αναστολείς διαύλων ασβεστίου
- Κεφαλοσπορίνες
- Χολινεργικά φάρμακα
- Χλωροπροπαμίδη
- Κετοκοναζόλη
- Μετρονιδαζόλη
- Νικοτινικό οξύ
- Οπιοειδή

Σύνδρομα που σχετίζονται με το φαγητό και προσθετικά τροφών

- Ωτοκροταφικό σύνδρομο (Frey's syndrome)
- Σύνδρομο dumping
- Γευστικά σύνδρομα
- Ζεστά ποτά
- Γλουταμικό μονονάτριο
- Νιτρώδες νάτριο
- Θειώδη άλατα

της χορήγησης οιστρογόνων στην αντιμετώπιση των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης [264]. Ωστόσο ο ακριβής ρόλος των οιστρογόνων δεν έχει καθοριστεί ακόμη και σήμερα. Στις φυσιολογικές ασυμπτωματικές γυναίκες υπάρχει μια θερμικά ουδέτερη ζώνη (thermoneutral zone) όπου διακυμάνσεις της κεντρικής θερμοκρασίας σώματος έως περίπου 0.4°C δεν πυροδοτούν αντιρροπιστικούς μηχανισμούς, όπως οι εξάψεις. Στις συμπτωματικές γυναίκες το εύρος της ζώνης μειώνεται ώστε ακόμη και πολύ μικρές μεταβολές της κεντρικής θερμοκρασίας οδηγούν στην εκδήλωση μιας θερμορυθμιστικής απάντησης. Η συρρίκνωση της ζώνης αυτής πιθανόν να οφείλεται σε αυξημένη κεντρική νοραδρενεργική ενεργοποίηση, η οποία ακολουθεί τις μεταβολές των συγκεντρώσεων των οιστρογόνων. Φαίνεται δηλαδή ότι για την εμφάνιση των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων μεγαλύτερη σημασία έχει η απότομη μεταβολή των επιπέδων των οιστρογόνων, όπως σε γυναίκες με αμφοτερόπλευρη ωθηκεκτομή, παρά τα χαμηλά επίπεδα των οιστρογόνων (οι εξάψεις υποχωρούν με την πάροδο ετών από την εμμηνόπαυση όταν τα επίπεδα των οιστρογόνων είναι πλέον πολύ χαμηλά) [264]. Τέλος, αυξανόμενο ενδιαφέρον παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια ο ρόλος της σεροτονίνης στο μηχανισμό των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης, αφού τα επίπεδά της μειώνονται κατά περίπου 50% μετά την εμμηνόπαυση και η ορμονοθεραπεία τα επαναφέρει στα φυσιολογικά. Τα οιστρογόνα φαίνεται ότι επάγουν τη σύνθεση της σεροτονίνης, η οποία με τη σειρά της αναστέλλει την παραγωγή νοραδρεναλίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα [269]. Τα αποτελέσματα μεγάλων κλινικών μελετών επιβεβαιώνουν τη στενή σχέση μεταξύ της παρουσίας αγγειοκινητικών συμπτωμάτων και ενεργοποίησης του αυτόνομου νευρικού συστήματος [270, 271].

Η αντιμετώπιση των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης γίνεται με τη χρήση φαρμακευτικής και μη φαρμακευτικής αγωγής. Η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα μόνο ή συνδυασμένα με προγεσταγόνα είναι ο πιο αποτελεσματικός τρόπος αντιμετώπισης και εξάλειψης των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων [256]. Η χορήγηση άλλων φαρμάκων όπως οι αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης (specific serotonin reuptake inhibitors, *SSRIs*) και η κλονιδίνη, οι εναλλακτικές θεραπείες όπως τα φυτοιστρογόνα ή ο βελονισμός, παρουσιάζουν μικρή αποτελεσματικότητα σε συνδυασμό με αυξημένη επίπτωση σοβαρών, σε κάποιες περιπτώσεις, παρενεργιών. Οι απλές συμβουλές τροποποίησης του τρόπου ζωής με αποφυγή του αλκοόλ, της καφεΐνης, συγκεκριμένων τροφών και η έναρξη τακτικής καθημερινής άσκησης μπορούν να μειώσουν τη συχνότητα και βαρύτητα των εξάψεων ικανοποιητικά, αλλά τα σοβαρά συμπτώματα συνήθως απαιτούν τη χρήση ορμονικής θεραπείας [256].

3.4 Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακός κίνδυνος

3.4.1 Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακά νοσήματα

Η επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων στις γυναίκες φαίνεται να παρουσιάζει κατακόρυφη αύξηση αμέσως μετά την εμμηνόπαυση. Συγκεκριμένα, στη μελέτη Framingham η επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων διπλασιάζεται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 40–54 ετών σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [272]. Η αύξηση της νοσηρότητας και θνητότητας που σχετίζεται με καρδιαγγειακές νόσου μετά την εμμηνόπαυση [2, 273, 274] αποδίδεται στην απώλεια των προστατευτικών επιδράσεων των ενδογενών οιστρογόνων.

Ωστόσο, ο ακριβής προγνωστικός ρόλος της εμμηνόπαυσης στην αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου στις γυναίκες δεν είναι ξεκάθαρος. Σε μια μελέτη παρακολούθησης γυναικών για 16 χρόνια, η εμμηνόπαυση δεν αποτελούσε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακών συμβαμάτων [275]. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση δεκαοχτώ επιμέρους μελετών παρατήρησης δεν ανέδειξε επίσης καμιά σχέση μεταξύ φυσικής εμμηνόπαυσης και της επίπτωσης καρδιαγγειακών νοσημάτων, ενώ αναφέρεται μια στατιστικά σημαντική αλλά μέτρια επίδραση της πρώιμης ηλικίας εμμηνόπαυσης και μια πιο έκδηλη επίδραση της αμφοτερόπλευρης ωοθηκεκτομής στην αυξημένη επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων [276]. Η ηλικία εμμηνόπαυσης των γυναικών με πρώιμη (<45 ετών) και χειρουργική εμμηνόπαυσης σχετίζεται αντιστρόφως με την αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου σε αυτές τις γυναίκες [272, 273, 277-279].

Η επίδραση της εμμηνόπαυσης στον καρδιαγγειακό κίνδυνο των γυναικών στηρίζεται επίσης από μελέτες που σχετίζουν την αυξημένη επίπτωση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και υποκλινικής αθηροσκλήρωσης με τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση. Ωστόσο, δεν είναι πάντα εύκολο να ξεχωρίσει κανείς τη σχετική επίδραση της ηλικίας και της εμμηνόπαυσης καθατής (απώλεια ενδογενών οιστρογόνων) στην εμφάνιση των παραπάνω αναφερόμενων παραγόντων κινδύνου και την καρδιαγγειακή πρόγνωση [280].

3.4.2 Εμμηνόπαυση και αρτηριακή Πίεση

Η υπέρταση είναι σαφώς πιο συχνή σε νέους άντρες παρά σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, αλλά αυτή η σχέση αντιστρέφεται μετά την ηλικία των 60 ετών οπότε και οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες αποτελούν την πλειοψηφία των υπερτασικών [281]. Παρά το γεγονός ότι η εμμηνόπαυση έχει συσχετιστεί με την ενίσχυση της ηλικιο-εξαρτώμενης αύξησης της αρτηριακής πίεσης στις γυναίκες [282], οι περισσότεροι ερευνητές αμφισβητούν την ανεξάρτητη επίδραση της φυσικής εμμηνόπαυσης στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Μια πρόσφατη μεγάλη πολυκεντρική, πολυεθνική μελέτη έδειξε ότι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης κατά την περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση δεν σχετίζεται με την είσοδο στην εμμηνόπαυση *per se* αλλά μάλλον με την αύξηση της ηλικίας [283]. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν επίσης και άλλες πρόσφατες μεγάλες μελέτες [284-287], ενώ η αύξηση της αρτηριακής πίεσης στην εμμηνόπαυση έχει αποδοθεί και στην αύξηση του σωματικού βάρους, η οποία παρατηρείται στις γυναίκες κατά τη διάρκεια της μετάβασης στην εμμηνόπαυση [288, 289]. Παρομοίως και η επίδραση της χειρουργικής εμμηνόπαυσης στα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως καθώς οι μελέτες που έχουν γίνει παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα [284, 290, 291].

3.4.3 Εμμηνόπαυση και αύξηση σωματικού βάρους

Η σχέση της αύξησης του σωματικού βάρους με την εμφάνιση της εμμηνόπαυσης στις γυναίκες δεν είναι ξεκάθαρη. Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι κατά την περίοδο της μετάβασης στην εμμηνόπαυση οι γυναίκες παρουσιάζουν μια τάση αύξηση βάρους, ανεξάρτητα από την αύξηση της ηλικίας, ενώ είναι εμφανής και η ανακατανομή του λίπους από την περιφέρεια (υποδόριο) προς τον κορμό (σπλαχνική/κεντρική παχυσαρκία) [7, 292]. Οι περισσότερες μακροχρόνιες μελέτες παρακολούθησης αναφέρουν ότι η φυσική εμμηνόπαυση δεν σχετίζεται με αύξηση του δείκτη μάζας σώματος μετά από στάθμιση των αποτελεσμάτων για την ηλικία [286, 293], ενώ η χειρουργική εμμηνόπαυση σχετίζεται σταθερά με αυξημένη πρόσληψη βάρους [290, 294, 295] καθώς και μεταβολή του σωματότυπου των γυναικών προς κεντρική εναπόθεση του λίπους [296]. Σε πιο πρόσφατες μελέτες βρέθηκε ότι οι γυναίκες που είχαν ιστορικό χειρουργικής εμμηνόπαυσης καθώς και

όσες βρίσκονταν στην περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση παρουσίαζαν αύξηση του δείκτη μάζας σώματος σε σύγκριση με τις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες ανεξάρτητα από την ηλικία, κάτι που δεν ίσχυε για γυναίκες που είχαν ήδη μπει σε φυσική εμμηνόπαυση (δηλαδή >12 μήνες αμηνόρροιας) [285, 287, 297]. Είναι λοιπόν πιθανόν ότι οι μεταβολές των ορμονών κατά τη διάρκεια της περιεμμηνόπαυσης και τις χειρουργικής εμμηνόπαυσης και όχι η οριστική εξάλειψη των ορμονών μετά την είσοδο στην εμμηνόπαυση να είναι υπεύθυνες για την αυξημένη πρόσληψη σωματικού βάρους στις γυναίκες. Βέβαια θα πρέπει να τονιστεί ότι η άμεση επίδραση της περιεμμηνόπαυσης ή της χειρουργικής εμμηνόπαυσης στην αύξηση του δείκτη μάζας σώματος των γυναικών είναι μάλλον μικρή, ενώ άλλοι πιο καθιερωμένοι παράγοντες, όπως η μειωμένη φυσική δραστηριότητα, είναι σαφώς πιο σημαντικοί για την αυξημένη πρόσληψη σωματικού βάρους [297].

3.4.4 Εμμηνόπαυση και σακχαρώδης διαβήτης – αντίσταση στην ινσουλίνη

Η ανάπτυξη σακχαρώδους διαβήτη και αντίστασης στην ινσουλίνη παρουσιάζει διαφορές μεταξύ αντρών και γυναικών. Η συγκέντρωση της γλυκόζης νηστείας πλάσματος αυξάνεται με την ηλικία και στα δυο φύλα αλλά με γρηγορότερο ρυθμό στις γυναίκες, ενώ η αύξηση στις γυναίκες γίνεται πιο δραματική μετά την ηλικία των 50 ετών (δηλαδή μετά την ηλικία της εμμηνόπαυσης) [298]. Επίσης έχειδειχτεί ότι παρά το γεγονός ότι πριν την ηλικία των 50 ετών οι δείκτες ινσουλινο-ευαισθησίας είναι υψηλότεροι στις γυναίκες σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας άντρες, μετά την ηλικία των 50 ετών η διαφορά αυτή εξαφανίζεται [298]. Από την άλλη οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες σε σύγκριση με προεμμηνόπαυσιακές εμφανίζουν μια αύξηση των επιπέδων της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (δείκτης μακροχρόνιας ρύθμισης του μεταβολισμού της γλυκόζης) και μάλιστα ανεξάρτητα από την επίδραση της ηλικίας ή της παχυσαρκίας [299, 300], ενώ ήπια αντίσταση στην ινσουλίνη έχει καταγραφεί σε υγιείς εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που δεν χρησιμοποιούσαν ορμονική θεραπεία [301]. Ωστόσο, οι συσχετίσεις των μεταβολών στο μεταβολισμό της γλυκόζης με τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση δεν επιβεβαιώνονται σε μεγάλες κλινικές μελέτες παρακολούθησης [275, 283, 302]. Αρκετοί ερευνητές μάλιστα αποδίδουν τις μεταβολές στη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και την αντίσταση στην ινσουλίνη σε

εμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις μεταβολές του βάρους και της κατανομής του λίπους [303] καθώς και την αύξηση της ηλικίας [275, 283] κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση.

3.4.5 Εμμηνόπαυση και λιπίδια

Τα επίπεδα των λιπιδίων του αίματος παρουσιάζουν διακυμάνσεις ανάλογα με την ηλικία και στα δύο φύλα, αλλά στις γυναίκες σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των επιπέδων φαίνεται να παίζει η μετάβαση στην εμμηνόπαυση [283, 287, 304]. Η ολική και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη αυξάνεται σε άντρες ηλικίας 35–50 ετών, ενώ στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη δεν εμφανίζει καμιά σημαντική μεταβολή των επιπέδων της με την αύξηση της ηλικίας [23]. Μετά την ηλικία των 50 ετών, η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη σταματά να αυξάνεται στους άντρες ενώ στις γυναίκες παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της ολικής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης, η οποία γίνεται εμφανής μέσα στα πρώτα 3 έτη από τη φυσική εμμηνόπαυση [302] και στους πρώτους 2 μήνες μετά από χειρουργική εμμηνόπαυση [305]. Οι περισσότερες συγχρονικές (cross-sectional) αλλά και προοπτικές (prospective) μελέτες έχουν δείξει ότι σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα επίπεδα της ολικής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης αυξάνουν κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση ανεξάρτητα από την ηλικία ή την ύπαρξη άλλων παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου [283, 285, 300, 304, 306-308]. Συγκεκριμένα, στη μελέτη SWAN τα επίπεδα ολικής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη ήταν οι μόνες μεταβολικές παράμετροι που παρουσίαζαν αύξηση κατά την μετάβαση στην εμμηνόπαυση ανεξάρτητα από την ηλικία [283]. Επιπλέον, η μετάβαση στην εμμηνόπαυση φαίνεται ότι επιδρά και στην ποιοτική σύσταση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης καθώς σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων των πιο αθηρογόνων μικρών πυκνών σωματιδίων (small dense particles) μέχρι και το 30–49 % της συγκέντρωσης της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης μετά την εμμηνόπαυση, ενώ σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αποτελούν περίπου το 10–13 % της συγκέντρωσης της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης [306, 309]. Ωστόσο, το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώνεται σε νεότερες μελέτες παρά την αύξηση των επιπέδων χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης στον ορό των εμμηνοπαυσιακών γυναικών [308].

Η επίπτωση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης είναι λιγότερο ξεκάθαρη. Τα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης είναι υψηλότερα κατά περίπου 10 mg/dl σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σύγκριση με άντρες ίδιας ηλικίας [310]. Οι διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη είτε παρουσιάζει μια μικρή μείωση [306, 307] είτε παραμένει αμετάβλητη [283, 285, 304, 308] σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Σε κάποιες μελέτες μάλιστα αναφέρεται ότι η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη αυξάνει κατά την περίοδο μετάβασης στην εμμηνόπαυση και ακολούθως στην εμμηνόπαυση μειώνεται έτσι ώστε συνολικά να μην διαφαίνεται καμιά μεταβολή σε σύγκριση με τα προεμμηνοπαυσιακά επίπεδα [283, 285]. Επιπλέον, φαίνεται ότι και η προστατευτική επίδραση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης στις γυναίκες εξασθενεί στην εμμηνόπαυση [308] κάτι που πιθανόν σχετίζεται με το γεγονός ότι υφίσταται μια σημαντική μείωση το πιο αντιαθηρογόνο κλάσμα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης (HDL2) ενώ αυξάνεται το κλάσμα της HDL3 [307, 311].

Τέλος, οι μελέτες δείχνουν μάλλον αντικρουόμενα αποτελέσματα όσον αφορά την επίδραση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων: κάποιες μελέτες δείχνουν αύξηση των τριγλυκεριδίων [285, 304, 306, 307], ενώ άλλες δεν αναδεικνύουν κάποια επίδραση της εμμηνόπαυσης στα τριγλυκερίδια [283]. Παρομοίως, ενώ παλαιότερα θεωρούνταν ότι τα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης α αυξάνονται μετά την εμμηνόπαυση κατά 25–50 % [312, 313], πιο πρόσφατες μελέτες αποδίδουν την αύξηση αυτή στην αύξηση της ηλικίας και όχι στην εμμηνόπαυση καθαυτή [283].

3.4.6 Εμμηνόπαυση και μεταβολικό σύνδρομο

Η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου παρουσιάζει αύξηση σε γυναίκες ηλικίας άνω των 55 ετών, δηλαδή μετά την εμμηνόπαυση, σε σύγκριση με γυναίκες ηλικίας 35–45 ετών [314–316]. Η αύξηση της επίπτωσης του μεταβολικού συνδρόμου σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχει συνδεθεί και με την αύξηση του σωματικού βάρους και την εμφάνιση παχυσαρκίας κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση [315]. Επιπλέον, έχει δειχτεί η συσχέτιση του μεταβολικού συνδρόμου με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο παρατηρείται μόνο

σε εμμηνοπαυσιακές και όχι σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και διαμορφώνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια των πρώτων 10–15 ετών μετά την εμμηνόπαυση χωρίς να είναι ξεκάθαρη και η επίδραση της ταυτόχρονης αύξησης της ηλικίας στις γυναίκες [317].

3.4.7 Εμμηνόπαυση και αγγειακή φλεγμονή

Η επίδραση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στα επίπεδα διαφόρων προαθηρογόνων και φλεγμονωδών δεικτών είναι ελάχιστα μελετημένη παρά το γεγονός ότι υπάρχουν πολλές μελέτες επίδρασης της ορμονικής θεραπείας στους δείκτες αυτούς σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τα επίπεδα διαφόρων δεικτών φλεγμονής, όπως του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1, του αγγειακού κυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1, του παράγοντα νέκρωσης όγκων α , του αμυλοειδούς A (serum amyloid A, SAA) και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων 1, φαίνεται να αυξάνονται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν χρησιμοποιούν ορμονική θεραπεία σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ανεξάρτητα από τη διαφορά ηλικίας, σωματικού βάρους και δεικτών κατανομής σωματικού λίπους μεταξύ των δυο ομάδων [318-320]. Αντίστοιχα, δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της E- και P-Σελεκτίνης, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και της ιντερλευκίνης 6 [283, 318-320] μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

3.4.8 Εμμηνόπαυση και σύστημα πήξης/ινωδολύσης αίματος

Η επίδραση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση, όπως άλλωστε και οι δράσεις της χορηγούμενης ορμονικής θεραπείας, στον πηκτικό και ινωδολυτικό μηχανισμό του αίματος φαίνεται να είναι μάλλον περίπλοκη. Παλαιότερες μελέτες έδειξαν σημαντικές δυσμενείς μεταβολές διαφόρων παραγόντων του μηχανισμού πηκτικότητας του αίματος κατά την μετάβαση στην εμμηνόπαυση ανεξάρτητα από την ηλικία, όπως αύξηση των επιπέδων του ινωδογόνου [321, 322], των παραγόντων πήξης VII και VIII [321, 323] και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου [321, 324] αλλά και μικρές αυξήσεις σε αντιθρομβωτικούς και προϊνωδολυτικούς παράγοντες, όπως η αντιθρομβίνη III [325], η

πρωτεΐνη C [326] και ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator, *tPA*) [320]. Ωστόσο, η πιο πρόσφατη μελέτη SWAN δεν ανέδειξε καμιά μεταβολή σε κανέναν παράγοντα του πηκτικού ή ινωδολυτικού μηχανισμού (ινωδογόνο, παράγοντας πήξης VII, ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου, αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1) σε γυναίκες κατά την μετάβαση στην εμμηνόπαυση [283, 327].

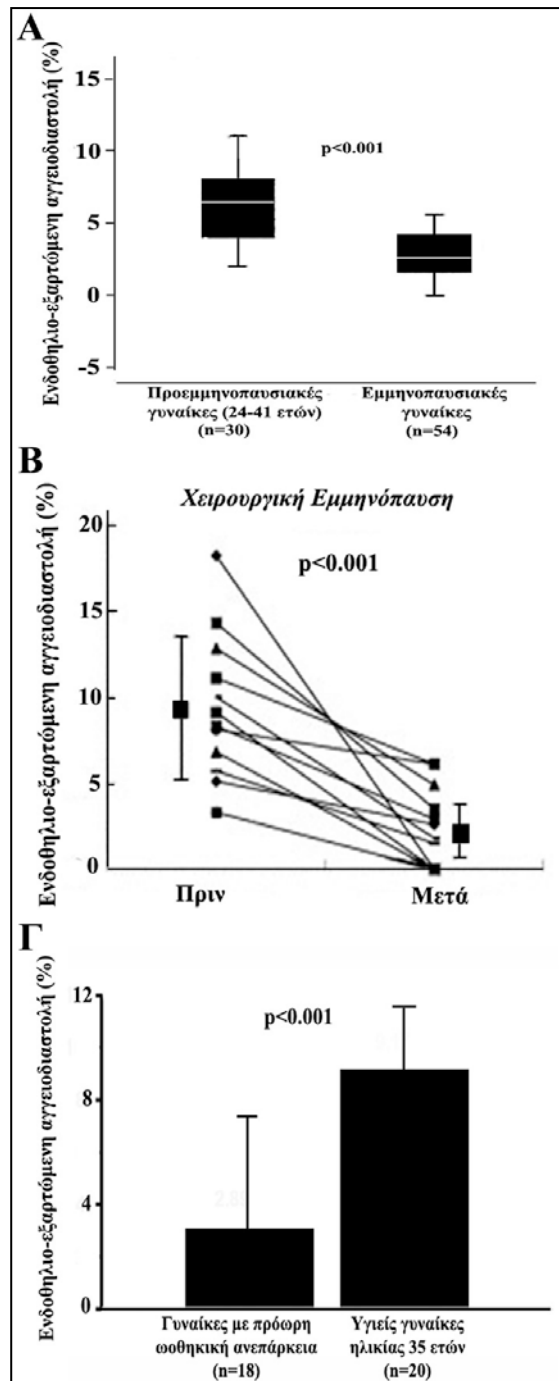
3.4.9 Εμμηνόπαυση και αγγειακή λειτουργία - αθηροσκλήρωση

Η παρουσία πρώιμων αθηρωματικών βλαβών στα στεφανιαία αγγεία των γυναικών, με τη μορφή λιπωδών γραμμώσεων και μικρών πλακών καταγράφεται ήδη από την ηλικία των 35 ετών [328]. Ωστόσο, η εξέλιξή τους σε κανονικές αθηρωματικές βλάβες παρατηρείται κατά τις επόμενες δεκαετίες (ηλικία 45–55 έτη), όταν συμβαίνει συνήθως και η εμμηνόπαυση στις γυναίκες, ενώ η εμφάνιση επιπλεγμένων αθηρωματικών βλαβών γίνεται μετά την ηλικία των 65 ετών συνήθως [329, 330]. Τα παθολογοανατομικά ευρήματα σε νεότερες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (<40 ετών) δείχνουν την ύπαρξη ήπιας αγγειακής νόσου και πλακών με χαμηλή πυκνότητα εναπόθεσης ινώδους ιστού σε σύγκριση με την εναπόθεση υψηλής πυκνότητας ινώδους ιστού που παρατηρούνται σε πιο προχωρημένα στάδια της αθηροσκλήρωσης [331]. Παρά το γεγονός ότι είναι δύσκολο να διαχωριστούν σαφώς οι μεταβολές των αγγείων που αποδίδονται στην πρόοδο της ηλικίας από αυτές που σχετίζονται με τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, υπάρχουν αρκετές μελέτες σύγκρισης προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνόπαυσιακών γυναικών που δείχνουν ότι η εμμηνόπαυση και η επακόλουθη απώλεια των ενδογενών ορμονών του φύλου σχετίζεται άμεσα με αυξημένη επίπτωση υποκλινικής αθηροσκλήρωσης.

Η φυσική εμμηνόπαυση έχει συσχετιστεί με μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου στο ενδοθήλιο και την παρουσία αγγειακής ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [332-334] (**Εικόνα 3.2Α**). Ωστόσο, δεν υπάρχει άμεση σύγκριση μεταξύ ίδιας ηλικίας εμμηνόπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών στις προαναφερθείσες μελέτες και επομένως δεν είναι ξεκάθαρο εάν η παρατηρούμενη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία κατά την εμμηνόπαυση είναι αποτέλεσμα της απώλειας ενδογενών οιστρογόνων ή της προόδου της ηλικίας. Έχει δειχτεί εξάλλου ότι η ηλικία όπως και ο χρόνος από την εμμηνόπαυση είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της μειωμένης ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες [333, 335].

Η παρουσία ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε γυναίκες με χειρουργική εμμνόπαυση καθώς και άλλες καταστάσεις υποοιστρογοναιμίας υποστηρίζει τη γενική πεποίθηση ότι η απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων είναι καθοριστικής σημασίας για την εμφάνιση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που παρατηρείται στην εμμνόπαυση. Η οξεία απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων μετά από ωθηκεκτομή σχετίζεται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [336, 337], η οποία εμφανίζεται μόλις σε μια εβδομάδα μετά το χειρουργείο [338] (Εικόνα 3.2B) και αποκαθίσταται σε φυσιολογικά επίπεδα μετά από βραχύχρονη χορήγηση οιστραδιόλης [336]. Νέες γυναίκες με πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια εμφανίζουν σημαντική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε σύγκριση με ίδιες ηλικίας γυναίκες με φυσιολογική ωθηκική λειτουργία [339] (Εικόνα 3.2Γ). Επιπλέον, άλλες ομάδες νέων γυναικών με χαμηλά επίπεδα ενδογενών οιστρογόνων, όπως οι γυναίκες με υποθαλαμικό υπογοναδισμό [340] και αθλητική αμηνόρροια [341], εμφανίζουν επίσης διαταραγμένη ενδοθηλιακή λειτουργία, η οποία και έχει συσχετιστεί με την υποοιστρογοναιμία [341]. Ακόμη και σε νέες γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο, η ενδοθηλιακή λειτουργία φαίνεται να μεταβάλλεται περιοδικά

κατά τη διάρκεια του κύκλου σε σχέση με τα επίπεδα των ενδογενών οιστρογόνων, καθώς τα χαμηλά επίπεδα οιστρογόνων σχετίζονται με μια σχετική μείωση της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας [342, 343]. Η παρατήρηση αυτή μάλιστα φαίνε-



Εικόνα 3.2. Μείωση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής σε γυναίκες με φυσική (Α) [333] και χειρουργική (Β) [338] εμμνόπαυση και γυναίκες με πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια (Γ) [339].

ται να έχει και αντίστοιχη κλινική σημασία καθώς υπάρχει αυξημένη 'ευαισθησία' στην εμφάνιση οξέων στεφανιαίων επεισοδίων κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά την έμμηνο ρύση, όταν τα επίπεδα των ενδογενών οιστρογόνων είναι χαμηλά [344].

Σε αντίθεση με την ενδοθηλιακή λειτουργία η συσχέτιση της εμμηνόπαυσης με μεταβολές της αρτηριακής σκληρίας στις γυναίκες έχει μελετηθεί σε μικρότερο βαθμό. Σε γυναίκες 50 ετών η παρουσία εμμηνόπαυσης αποτελούσε ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη μείωσης της ελαστικότητας των καρωτίδων [345], ενώ σε προοπτική μελέτη παρακολούθησης γυναικών κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση φαίνεται ότι η μείωση της ελαστικότητας των αγγείων εμφανίζεται μέσα σε 2 έτη μετά την εμμηνόπαυση [346]. Η αορτική ταχύτητα παλμικού κύματος αυξάνεται σε εμμηνοπαυσιακές σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές ή περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ανεξάρτητα από την αύξηση της ηλικίας ή την ύπαρξη άλλων συγγυτικών παραγόντων [347]. Παρ' όλα αυτά δεν είναι εύκολο να διακρίνει κανείς την ανεξάρτητη από την ηλικία επίδραση της εμμηνόπαυσης ελαστικές ιδιότητες των αρτηριών, καθώς η ηλικία αποτελεί ίσως τον πιο ισχυρό παράγοντα αύξησης της αρτηριακής σκληρίας και μεταβάλλεται παράλληλα με την πρόοδο της εμμηνόπαυσης. Έχει δειχτεί μάλιστα ότι η εμμηνόπαυση μάλλον ενισχύει την ηλικιο-εξαρτώμενη αύξηση της αρτηριακής σκληρίας στις γυναίκες [348, 349].

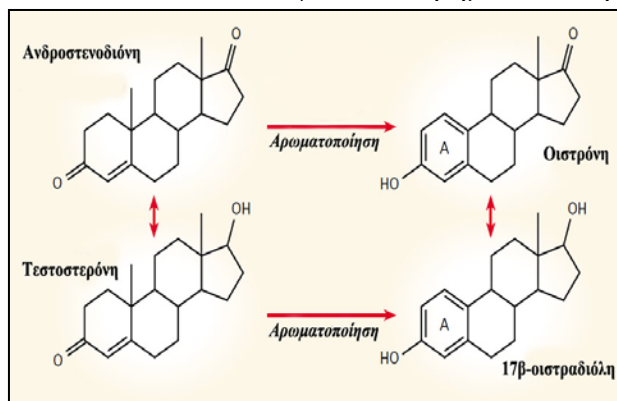
Τέλος, γυναίκες οι οποίες βρίσκονται στην περιεμμηνόπαυση ή την εμμηνόπαυση θεωρείται ότι χαρακτηρίζονται από ταχύτερη εξέλιξη της υποκλινικής αθηρωμάτωσης των καρωτίδων σε σχέση με γυναίκες που παραμένουν προεμμηνοπαυσιακές [350]. Έχει δειχτεί ότι κυρίως η χειρουργική εμμηνόπαυση (σε σύγκριση με τη φυσική εμμηνόπαυση) καθώς και η ταχύτερη μετάβαση σε φυσική εμμηνόπαυση σχετίζονται σταθερά με υψηλότερα επίπεδα πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων ανεξάρτητα από την ηλικία, ή την παρουσία άλλων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [351, 352]. Αντιθέτως, η φυσική εμμηνόπαυση στις γυναίκες δεν είναι ξεκάθαρο αν οδηγεί σε επιτάχυνση της υποκλινικής αθηρωμάτωσης των καρωτίδων ή αν οι διαφορές που παρατηρούνται στις μελέτες μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών είναι αποτέλεσμα της μεγαλύτερης ηλικίας των εμμηνοπαυσιακών γυναικών [345, 346, 351, 353-355].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

Παραγωγή και δράσεις των ενδογενών οιστρογόνων

4.1 Σχηματισμός, μεταφορά και μεταβολισμός των ενδογενών οιστρογόνων

Οι ορμόνες του φύλου στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες περιλαμβάνουν τα οιστρογόνα, την προγεστερόνη και τα ανδρογόνα. Η προγεστερόνη παράγεται από το ωχρό σωματίο μετά την ωορρηξία και την ωρίμανση του κυρίαρχου ωοθυλακίου, ενώ τα ανδρογόνα (κυρίως τεστοστερόνη και ανδροστενοδιόνη) εκκρίνονται από τα κύτταρα του στρώματος των ωοθηκών. Τα οιστρογόνα που παράγονται στο γυναικείο οργανισμό είναι η 17β-οιστραδιόλη, η οιστρόνη και η οιστριόλη και παράγονται μετά από μεταβολισμό της χοληστερόλης (**Εικόνα 4.1**) [244]. Το αποφασιστικό βήμα κατά την παραγωγή των στεροειδών ορμονών του φύλου είναι η μεταφορά της χοληστερόλης από το κυτταρόπλασμα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, όπου τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 καταλύουν το πρώτο στάδιο της στεροειδογένεσης. Η αρωματοποίηση (aromatization) αποτελεί το τελευταίο βήμα στο



Εικόνα 4.1. Παραγωγή ενδογενών οιστρογόνων από τα ανδρογόνα [244].

λύεται από το σύμπλοκο της αρωμάτισης-μονοξυγενάσης του κυτοχρώματος P450, το οποίο βρίσκεται στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η οιστραδιόλη, η οποία αποτελεί το κύριο οιστρογόνο στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες παράγεται από το κυρίαρχο ωοθυλάκιο, ενώ η οιστρόνη και η οιστριόλη προέρχονται από τη μετατροπή της οιστραδιόλης στο

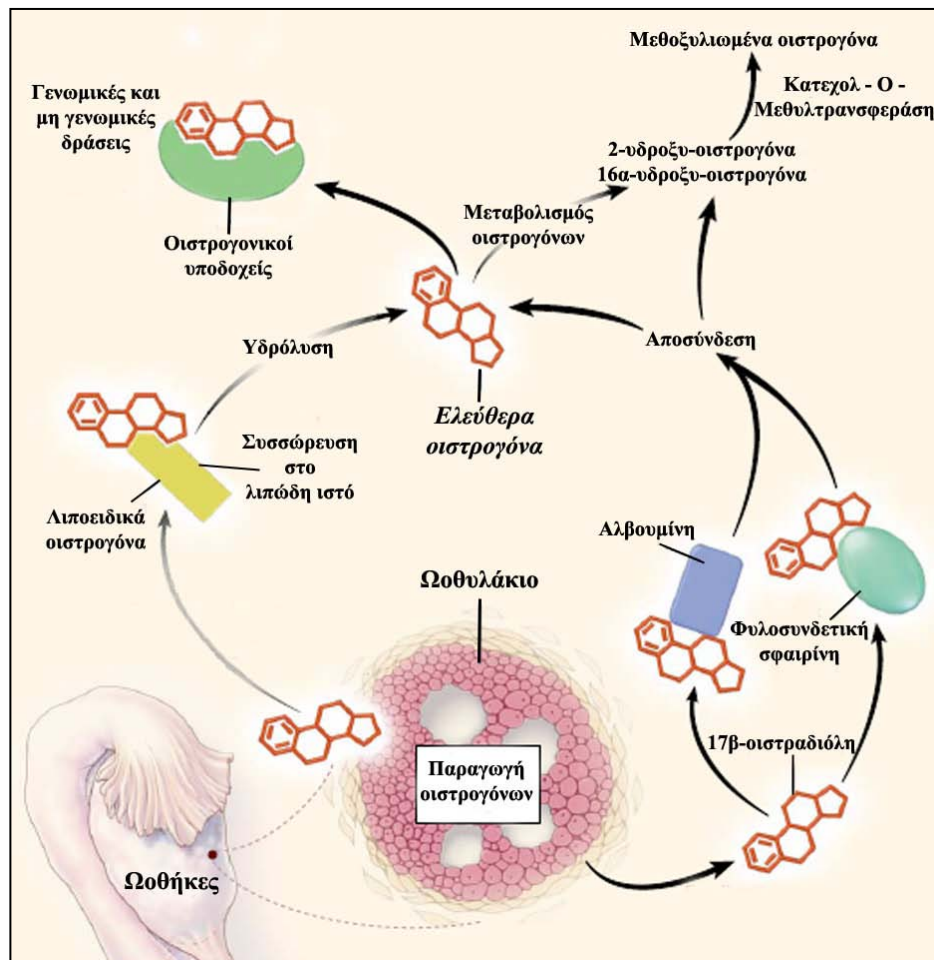
ήπαρ [244]. Επιπλέον, δραστηριότητα αρωματάσης ανιχνεύεται στο μυϊκό ιστό [356], το νευρικό σύστημα [357] και το λιπώδη ιστό [358]. Η ρύθμιση των επιπέδων των οιστρογόνων σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας γίνεται από τις γοναδοτροφίνες. Η θυλακιοτρόπος ορμόνη ελέγχει την έκφραση των ενζύμων που συμμετέχουν στη στεροειδογένεση [359]. Η συγκέντρωση της 17β-οιστραδιόλης σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κυμαίνεται από περίπου 100 pg/ml στην θυλακική φάση του κύκλου έως και 600 mg/ml κατά την ωορρηξία (**Πίνακας 4.1**). Μετά την εμμηνόπαυση τα επίπεδα της οιστραδιόλης πέφτουν σε τιμές παρόμοιες ή και χαμηλότερες των αντρών ίδιας ηλικίας (5-20 pg/ml) και φαίνεται ότι προέρχονται από εξωγοναδική μετατροπή της τεστοστερόνης. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες το κυρίαρχο οιστρογόνο είναι η οιστρόνη [244], ενώ δεν είναι γνωστοί οι μηχανισμοί που ρυθμίζουν την παραγωγή οιστρογόνων στην εμμηνόπαυση [359].

Πίνακας 4.1. Καθημερινή παραγωγή και συγκέντρωση στο αίμα των ενδογενών οιστρογόνων [244].

Φάσεις κύκλου	17β-οιστραδιόλη		Οιστρόνη		Οιστριόλη	
	Συγκέντρωση pg/ml	Παραγωγή μg	Συγκέντρωση pg/ml	Παραγωγή μg	Συγκέντρωση pg/ml	Παραγωγή μg
Θυλακική	40-200	60-150	30-100	50-100	3-11	6-23
Πριν την ωοθυλακιορρηξία	250-500	200-400	50-200	200-350	-	-
Ωχρινική	100-150	150-300	50-115	120-250	6-16	12-30
Πριν την έμμηνο ρύση	40-50	50-70	15-40	30-60	-	-
Εμμηνόπαυση	<20	5-25	15-80	30-80	3-11	5-22

Στο αίμα η οιστραδιόλη συνδέεται αναστρέψιμα με τη φυλοσυνδετική σφαιρίνη ενώ προσδένεται με μικρότερη συγγένεια στην αλβουμίνη (albumin). Μόνο ένα μικρό ποσοστό της οιστραδιόλης κυκλοφορεί ελεύθερο στον ορό (περίπου 2–3 %) [360]. Τα οιστρογόνα μεταβολίζονται περαιτέρω στο ήπαρ μέσω γλυκουρονοποίησης (glucuronidation) ή προσθήκηςθεικών ομάδων (sulfation) στα μόρια των οιστρογόνων, τροποποιήσεις οι οποίες βοηθούν στην αποβολή τους στη χολή ή στα ούρα [244]. Επιπλέον, τα οιστρογόνα μπορεί να μεταβολίζονται μέσω υδροξυλίωσης και επακόλουθης μεθυλίωσης προς σχηματισμό κατεχολ- και μεθοξυλιωμένων μορφών των οιστρογόνων (catechol & methoxylated estrogens) [361], οι οποίες φαίνεται ότι έχουν κάποια ασθενή οιστρογονική δραστηριότητα [362]. Τέλος, τα λιποειδικά οιστρογόνα (lipoidal estrogens) αποτελούν λιπώδεις εστέρες των φυσικών οιστρογόνων που συντίθενται στο αίμα, κυκλοφορούν συνδεδεμένα με τις λιποπρωτεΐνες και αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό. Συνολικά

περίπου το 10 % της οιστραδιόλης ορού βρίσκεται συνδεδεμένο με λιποπρωτεΐνες, κυρίως με υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες [363]. Τα λιποειδικά οιστρογόνα δεν μεταβολίζονται τόσο εύκολα όσο τα ελεύθερα οιστρογόνα και γι' αυτό απομακρύνονται από το αίμα με αργό ρυθμό. Μετά την πρόσληψη των λιποπρωτεϊνών από τα κύτταρα ακολουθεί υδρόλυση των συμπλεγμάτων, η οποία οδηγεί σε απελευθέρωση των οιστρογόνων στο αίμα (Εικόνα 4.2) [244].



Εικόνα 4.2. Παραγωγή, μεταφορά και μεταβολισμός των ενδογενών οιστρογόνων [244].

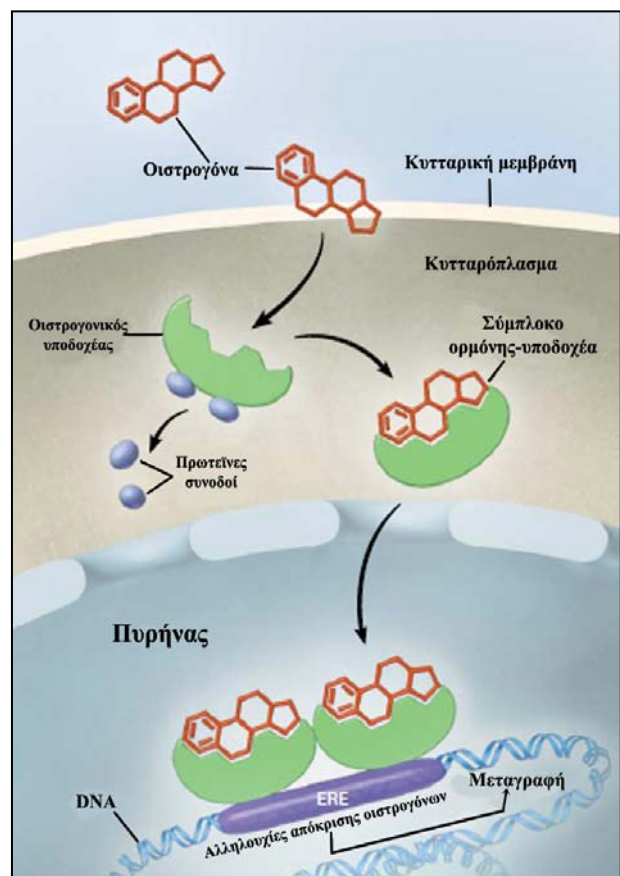
4.2 Μοριακές δράσεις των οιστρογόνων

Τα οιστρογόνα φαίνεται ότι ρυθμίζουν τη λειτουργία πολλών συστημάτων του γυναικείου οργανισμού συμπεριλαμβανομένων του αναπαραγωγικού συστήματος, των οστών, του δέρματος και του καρδιαγγειακού συστήματος. Οι βιολογικές δράσεις των οιστρογόνων επιτελούνται με τη μεσολάβηση τριών οιστρογονικών υποδοχέων: των κλασι-

κών οιστρογονικών υποδοχέων α και β (estrogen receptors α & β , *ER α & β*) και του νεότερου διαμεμβρανικού συνδεδεμένου με πρωτεΐνη G οιστρογονικού υποδοχέα (G-protein coupled membrane bound estrogen receptor, *GPR30*) [364]. Ο νέος αυτός υποδοχέας δεν φαίνεται να έχει δομικές ομοιότητες με τους κλασικούς οιστρογονικούς υποδοχείς α και β , αλλά παρουσιάζει τα τυπικά χαρακτηριστικά σύνδεσης με τα οιστρογόνα [365, 366]. Οι ειδικές επιδράσεις των οιστρογόνων σε κάθε ιστό καθορίζονται από τον τύπο του οιστρογονικού υποδοχέα που εμπλέκεται, τα γονίδια στόχους που ελέγχουν καθώς και από την ισορροπία μεταξύ άλλων ενεργοποιητών ή αναστολέων που μπορούν να τροποποιήσουν το τελικό αποτέλεσμα της οιστρογονικής δράσης [244].

4.2.1 Κλασική οδός δράσης οιστρογόνων – Γενωμικές δράσεις οιστρογόνων (Εικόνα 4.3)

Η κλασική οδός δράσης των οιστρογόνων είναι μέσω πρόσδεσης στους οιστρογονικούς υποδοχείς α και β , οι οποίοι μετά τη σύνδεση των ορμονών δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες και μεταβάλλουν την έκφραση γονιδίων στόχων (γενωμικές δράσεις - genomic actions) [367]. Η ακριβής θέση των οιστρογονικών υποδοχέων δεν είναι γνωστή, αλλά φαίνεται ότι διατηρείται μια ισορροπία στις συγκεντρώσεις των υποδοχέων στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς όταν δεν συνδέονται με οιστρογόνα βρίσκονται συνδεδεμένοι με διάφορες πρωτεΐνες συνοδούς (chaperones), οι οποίες σταθεροποιούν τους υποδοχείς σε ανενεργή κατάσταση και αποκρύπτουν τις περιοχές



Εικόνα 4.3. Κλασική οδός δράσης των οιστρογόνων [244].

πρόσδεσης στο γενετικό υλικό [368]. Με την πρόσδεση της ορμόνης στον υποδοχέα επέρχονται δομικές αλλαγές που οδηγούν στην αποδέσμευση των συνοδών πρωτεϊνών, όπως η πρωτεΐνη θερμικού σοκ 90 (heat shock protein 90, *HSP90*) [369], με αποτέλεσμα να επέρχεται η ενεργοποίηση του υποδοχέα. Το σύμπλεγμα ορμόνης-υποδοχέα με τη βοήθεια πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού, όπως η *caveolin-1*, μετακομίζει στον πυρήνα [370], όπου με τη μορφή ομοδιμερών ή ετεροδιμερών [371] συνδέεται με ειδικές αλληλουχίες του γενετικού υλικού (αλληλουχίες απόκρισης των οιστρογόνων – estrogen response elements, *ERE*) στις περιοχές επαγωγής των γονιδίων στόχων [367]. Η επίδραση των συμπλεγμάτων ορμόνης-υποδοχέα στο γενετικό υλικό διευκολύνεται ή/και ενισχύεται με τη βοήθεια ειδικών πρωτεϊνών (συνενεργοποιητές – coactivators) μέσω μιας σειράς πολύπλοκων μοριακών αλληλεπιδράσεων. Έχουν αναγνωριστεί μέχρι σήμερα πάνω από 20 πρωτεΐνες συνενεργοποιητές οι οποίες πιθανόν να συμβάλλουν και στην εμφάνιση κυτταρο-ειδικών επιδράσεων, δηλαδή τον έλεγχο της έκφρασης διαφορετικών γονιδίων σε διαφορετικά είδη κυττάρων ανάλογα με την παρουσία συγκεκριμένων συνενεργοποιητών πρωτεϊνών [372]. Εναλλακτικά, τα σύμπλοκα ορμόνης-υποδοχέα αλληλεπιδρούν με άλλους μεταγραφικούς υποδοχείς, όπως η ενεργοποιός πρωτεΐνη 1, ο πυρηνικός παράγων κB και η πρωτεΐνη Sp-1, μεταβάλλοντας έτσι την έκφραση γονιδίων ανεξάρτητα από την παρουσία των ειδικών αλληλουχιών στο γενετικό υλικό [373, 374].

Οι οιστρογονικοί υποδοχείς ανήκουν στην υπεροικογένεια των υποδοχέων στεροειδών ορμονών που αριθμεί >150 μέλη. Υπάρχουν δυο τύποι οιστρογονικών υποδοχέων (α και β) και αρκετές ισομορφές και παραλλαγές της συνένωσης των μεταγραφικών προϊόντων των γονιδίων (splicing) για κάθε τύπο. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς α και β διαφέρουν στη δομή τους και τα γονίδιά τους βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Το γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6 ενώ του οιστρογονικού υποδοχέα β στο χρωμόσωμα 14 [244]. Παρά το γεγονός ότι τα τμήματα πρόσδεσης στο DNA των δυο οιστρογονικών υποδοχέων παρουσιάζουν υψηλό βαθμό ομολογίας (περίπου 96%), τα τμήματα σύνδεσης των ορμονών διαφέρουν αρκετά μεταξύ των δυο οιστρογονικών υποδοχέων (53% ομοιότητα), ενώ υπάρχουν και τμήματα των υποδοχέων με λιγότερο διατηρημένη δομή όπου προσδένονται άλλα ρυθμιστικά μόρια της λειτουργίας των οιστρογονικών υποδοχέων [375]. Αποτέλεσμα των διαφορών των τμημάτων σύνδεσης των ορμονών στους δυο τύπους των οιστρογονικών υποδοχέων είναι η διαφορετική ικανότητα σύνδεσης των αγωνιστών των δυο υποδοχέων (**Πίνακας 4.2**) [376].

4.2.2 Εναλλακτικές οδοί δράσης των οιστρογόνων – Μη γενωμικές δράσεις οιστρογόνων

Η κλασική οδός δράσης των οιστρογόνων η οποία περιλαμβάνει τη μεταβολή της έκφρασης διαφόρων γονιδίων στόχων απαιτεί ένα χρονικό διάστημα λεπτών ή/και ωρών προκειμένου να γίνουν αντιληπτές αυτές οι μεταβολές. Αντιθέτως, τα οιστρογόνα είναι υπεύθυνα για ποικίλες δράσεις που χαρακτηρίζονται από ταχεία έναρξη και δεν μπορούν να εξηγηθούν από μεταβολές της μετα-

Πίνακας 4.2. Συγγένεια σύνδεσης των ενδογενών οιστρογόνων με τους οιστρογονικούς υποδοχείς [376].

	Οιστρογονικός Υποδοχέας α	Οιστρογονικός Υποδοχέας β
17β-οιστραδιόλη	100	100
17α-οιστραδιόλη	58	11
Οιστρόνη	60	37
Οιστριόλη	14	21
4-υδροξυ-οιστραδιόλη	13	7
2-υδροξυ-οιστρόνη	2	0.2

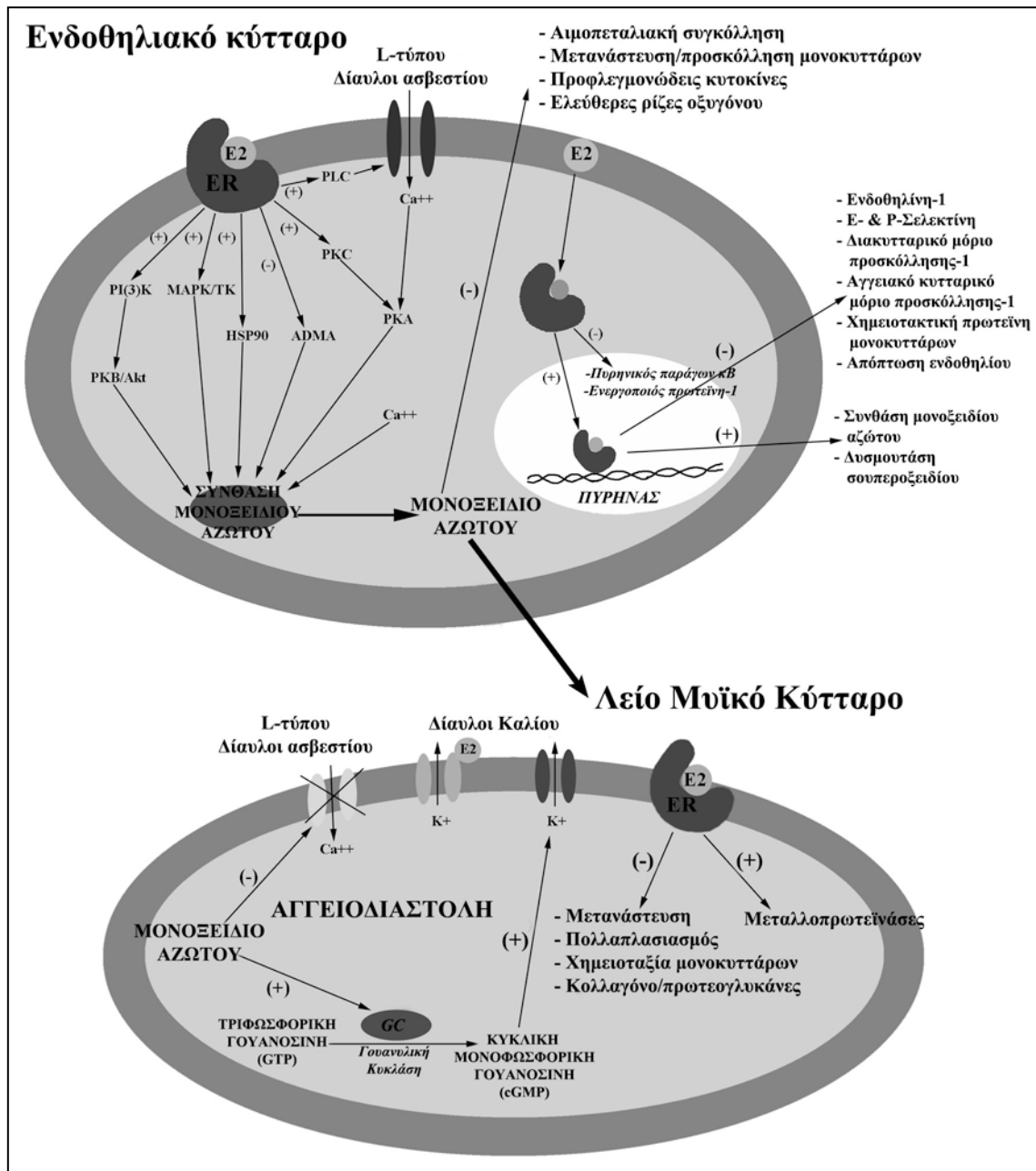
Η συγγένεια σύνδεσης στους υποδοχείς περιγράφεται σε κλίμακα 0-100 με μέγιστο το 100.

γραφικής δραστηριότητας [377]. Οι δράσεις αυτές είναι αποτέλεσμα των άμεσων επιδράσεων των οιστρογόνων (non genomic actions) σε πληθυσμούς των οιστρογονικών υποδοχέων α και β που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη [364] είτε σε ενδοκυττάρους, διαμεμβρανικούς οιστρογονικούς υποδοχείς συνδεδεμένων με πρωτεΐνη G, οι οποίοι εντοπίζονται κυρίως στο ενδοπλασματικό δίκτυο [366]. Παραδείγματα των ταχέων οιστρογονικών δράσεων είναι η ταχεία αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων αρτηριών [378], η ταχεία ινσουλινοτρόπος επίδραση στα β κύτταρα του παγκρέατος [379] και η ταχεία ενεργοποίηση μοριακών οδών που σχετίζονται με τη δράση αυξητικών παραγόντων σε νευρικά κύτταρα [380]. Έχει βρεθεί μια άμεση σύνδεση μεταξύ της ενεργοποίησης των μεμβρανικών οιστρογονικών υποδοχέων και της πρωτεϊνικής κινάσης ενεργοποιούμενης από μιτογόνα (mitogen-activated protein kinase, *MAPK*) [381] σε οστεοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, νευρώνες και ανθρώπινα κύτταρα μαζικού αδένα [382].

4.3 Οιστρογόνα και καρδιαγγειακό σύστημα

Από το σύνολο των στεροειδών ορμονών του φύλου, τα οιστρογόνα είναι οι καλύτερα μελετημένες ορμόνες ως προς τις δράσεις τους στο καρδιαγγειακό σύστημα. Οι

δράσεις των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση των οιστρογονικών υποδοχέων α και β , οι οποίοι και εκφράζονται στα κύτταρα του καρδιαγγειακού συστήματος, όπως τα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων (Εικόνα 4.4) [383-385]. Πιθανολογείται ότι ο υποδοχέας β εκφράζεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ ο υποδοχέας α εκφράζεται σε μεγαλύτερο βαθμό στα λεία μυϊκά κύτταρα παρά το γεγονός ότι το συνολικό επίπεδο έκφρασης των υποδοχέων στα αγγεία είναι



Εικόνα 4.4. Γενωμικές και μη γενωμικές (άμεσες) δράσεις των οιστρογόνων στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος.

ER, οιστρογονικός υποδοχέας, E2, οιστρογόνα

μάλλον χαμηλό [372]. Ο διαμεμβρανικός οιστρογονικός υποδοχέας συνδεδεμένος με την πρωτεΐνη G εκφράζεται επίσης στο κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος [386], ενώ πιθανολογείται ότι εκφράζεται και στα μυοκαρδιακά κύτταρα συμμετέχοντας στον έλεγχο της ανάπτυξης των κυττάρων [387].

4.3.1 Γενωμικές δράσεις οιστρογόνων

Η ενεργοποίηση των κυτταροπλασματικών/πυρηνικών οιστρογονικών υποδοχέων στα κύτταρα των αγγείων οδηγεί στη ρύθμιση της έκφρασης αρκετών γονιδίων στόχων (**Πίνακας 4.3**). Στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μέσω γενωμικών δράσεων, τα οιστρογόνα αυξάνουν τη έκφραση της ενδοθηλιακής συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου [372] καθώς και την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων,

Πίνακας 4.3. Γονίδια που ρυθμίζονται από τη δράση των οιστρογόνων στα κύτταρα των αγγείων [373].

Συνθάση προστακυκλίνης
Ενδοθηλιακή συνθάση μονοξειδίου αζώτου
Επαγόμενη συνθάση μονοξειδίου αζώτου
Ενδοθηλίνη-1
Κολλαγόνο
Μεταλλοπρωτεϊνάσες στρώματος
E-Σελεκτίνη
Αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1
Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας

όπως η δυσμουτάση του σουπεροξειδίου του υδρογόνου (superoxide dismutase, *SOD*) [388]. Επιπλέον, το σύμπλεγμα ορμόνης-υποδοχέα τροποποιεί τη δραστηριότητα και άλλων γνωστών παραγόντων μεταγραφής στα κύτταρα του καρδιαγγειακού συστήματος, όπως η ενεργοποιός πρωτεΐνη 1 και ο πυρηνικός παράγων κB, τα οποία με τη σειρά τους ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που δεν περιέχουν αλληλουχίες απόκρισης στα οιστρογόνα. Με αυτόν τον τρόπο τα οιστρογόνα ελέγχουν την παραγωγή πολλών μορίων που συμμετέχουν στην έναρξη και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, όπως το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, το μόριο προσκόλλησης αγγειακών κυττάρων 1, οι σελεκτίνες, η πρωτεΐνη χημειοταξίας μονοκυττάρων 1 και η ενδοθηλίνη 1 (**Εικόνα 4.4**) [373].

Ένα σημαντικό ποσοστό των προστατευτικών επιδράσεων των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα αποδίδεται στην τροποποίηση γνωστών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (**Πίνακας 4.4**). Οι επιδράσεις των οιστρογόνων στα επίπεδα των λιπιδίων εξαρτώνται κυρίως από την ενεργοποίηση οιστρογονικών υποδοχέων στο ήπαρ και την τροποποίηση της ηπατικής έκφρασης των αποπρωτεϊνών. Παρομοίως τα οιστρογόνα μεταβάλλουν την έκφραση αρκετών πρωτεϊνών του συστήματος πήξης και ινωδόλυσης. Οι

δράσεις αυτές θεωρείται ότι οφείλονται βασικά στην ενεργοποίηση των οιστρογονικών υποδοχέων α στα ηπατικά κύτταρα [373].

4.3.2 Μη γενωμικές δράσεις οιστρογόνων

Οι μεμβρανικοί οιστρογονικοί υποδοχείς α και β είναι υπεύθυνοι για αρκετές από τις αναφερόμενες ταχείες μη γενωμικές δράσεις των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα. Οι δράσεις αυτές στα ενδοθηλιακά κύτταρα οδηγούν τελικά σε αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου αζώτου το οποίο με τη σειρά του μεσολαβεί σε πολλές αγγειοπροστατευτικές δράσεις (**Εικόνα 4.4**) [373, 389]. Έχει δειχτεί ότι η απευθείας χορήγηση οιστραδιό-

Πίνακας 4.4. Επιδράσεις των οιστρογόνων σε γονίδια γνωστών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [373].

Ιστικός παράγοντας
Ινωδογόνο
Πρωτεΐνη S
Παράγοντας πήξης VII
Παράγοντας πήξης XII
Αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου-1
Ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου
Αντιθρομβίνη III
Απολιποπρωτεΐνες A, B, D, E
Απολιποπρωτεΐνη α

λης στα στεφανιαία αγγεία προκαλεί ταχεία αγγειοδιαστολή [373], ενώ η χορήγηση οιστραδιόλης σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων σχετίζεται με μια δοσο-εξαρτώμενη αύξηση της δραστηριότητας της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου [390, 391]. Η ενεργοποίηση της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου φαίνεται να οφείλεται κυρίως στη δράση του οιστρογονικού υποδοχέα α και την επακόλουθη ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης ενεργοποιούμενης από μιτογόνα [392] και του συστήματος φωσφατιδυλινοσιτόλης-3-Akt κινάσης (phosphatidylinositol-3-Akt kinase, *PI3-Akt*) [393]. Οι μη γενωμικές δράσεις περιλαμβάνουν επίσης την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (protein kinase C, *PKC*), της φωσφολιπάσης C (phospholipase C, *PLC*) και της αδενυλκυκλάσης [394, 395], την αύξηση εισροής ασβεστίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα [396] και τη μείωση της διαθεσιμότητας της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης (asymmetric dimethylarginine, *ADMA*), ενός αναστολέα της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου [397]. Τέλος, τα οιστρογόνα σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των φυσιολογικών (φαρμακολογικό φαινόμενο) οδηγούν σε αγγειοχάλαση και μέσω άμεσων επιδράσεων σε κανάλια καλίου και ασβεστίου στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων [375, 398, 399].

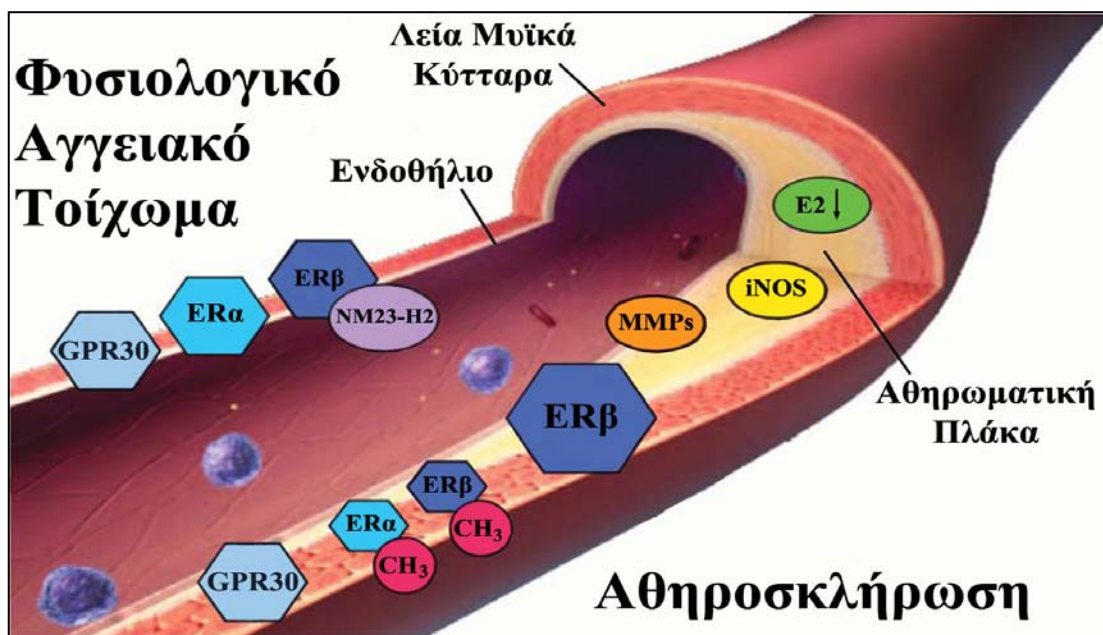
Η ενεργοποίηση των διαμεμβρανικών οιστρογονικών υποδοχέων που συνδέονται με πρωτεΐνη G σχετίζεται με αύξηση της δραστηριότητας της αδενυλκυκλάσης με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cyclic adenosine monophosphate, *cAMP*) [365], η οποία συμμετέχει στον έλεγχο του αγγειακού τόνου και τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης μέσω πρόκλησης οξείας αρτηριοδιαστολής [400]. Επιπλέον, η εκλεκτική ενεργοποίηση των διαμεμβρανικών οιστρογονικών υποδοχέων που συνδέονται με την πρωτεΐνη G αναστέλλει ισχυρά και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων [400]. Οι ταχείες δράσεις των νεότερων οιστρογονικών υποδοχέων εμφανίζονται μετά από τη χορήγηση 17β-οιστραδιόλης, αλλά όχι οιστρόνης και οιστριόλης [365]. Τα επίπεδα του διαμεμβρανικού οιστρογονικού υποδοχέα συνδεδεμένου με G πρωτεΐνη ρυθμίζονται από τα επίπεδα της διατημητικής τάσης της αιματικής ροής στα αγγεία εμπλέκοντας πιθανόν τους υποδοχείς αυτούς στον ροο-εξαρτώμενο έλεγχο της ενδοθηλιακής λειτουργίας των αγγείων [401]. Οι ίδιοι οιστρογονικοί υποδοχείς φαίνεται ότι εκτός από μη γενωμικές δράσεις έχουν και κάποια συμμετοχή στην μεταβολή της γονιδιακής μεταγραφής στα κύτταρα των αγγείων μέσω περαιτέρω ενεργοποίησης των πυρηνικών οιστρογονικών υποδοχέων [402].

4.3.3 Οιστρογονικοί υποδοχείς και Καρδιαγγειακό σύστημα

Η σχετική σημασία και συμμετοχή του κάθε υποτύπου των οιστρογονικών υποδοχέων (α και β) ή του νεότερου διαμεμβρανικού υποδοχέα συνδεδεμένου με G πρωτεΐνη στις καρδιαγγειακές δράσεις των οιστρογόνων δεν είναι πλήρως κατανοητή [403]. Σε νεαρό άντρα 31 ετών με καταστροφική μετάλλαξη στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α έχει αναφερθεί πρόιμη εμφάνιση στεφανιαίας νόσου [404] ενώ παράλληλα πειραματικές μελέτες σε ποντίκια δείχνουν ότι ο οιστρογονικός υποδοχέας α είναι ο κύριος υπεύθυνος για τις προστατευτικές επιδράσεις των οιστρογόνων στα αγγεία [405, 406]. Από την άλλη, στον άνθρωπο, έχει δείχτει ότι οι οιστρογονικοί υποδοχείς α και β ρυθμίζουν διαφορετικές και επί το πλείστον μη αλληλεπικαλυπτόμενες ομάδες γονιδίων στα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος και επομένως οι δράσεις τους αλληλοσυμπληρώνονται για τον έλεγχο της αγγειακής ομοιοστασίας, κάτι το οποίο πιθανόν μεταβάλλεται με την ύπαρξη αθηρωματικής νόσου στα αγγεία [407]. Πράγματι, σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με προχωρημένη αθηροσκλήρωση, ο οιστρογονικός υποδοχέας β εκφράζεται σε υψηλότερα επίπεδα από τον

οιστρογονικό υποδοχέα α [408]. Η δε έκφραση του οιστρογονικού υποδοχέα β έχει συσχετιστεί με την αυξημένη εναπόθεση ασβεστίου και την παρουσία αθηρωματικής νόσου των στεφανιαίων αγγείων [408]. Φαίνεται επίσης ότι σε αθηρωματικά αγγεία ο οιστρογονικός υποδοχέας β δρα ανασταλτικά στις δράσεις του οιστρογονικού υποδοχέα α , συμπεριλαμβανομένου και της αύξησης της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής [409, 410] γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει την απώλεια της απόκρισης των αθηρωματικών αρτηριών στη δράση των οιστρογόνων. Η κλινική σημασία των δράσεων του νεότερου διαμεμβρανικού οιστρογονικού υποδοχέα συνδεδεμένου με πρωτεΐνη G δεν έχει μελετηθεί.

Η ρύθμιση των επιπέδων των οιστρογονικών υποδοχέων σε φυσιολογικά αγγεία γίνεται μέσω δυο κύριων μηχανισμών. Πρώτον, η ενεργοποίηση των οιστρογονικών υποδοχέων οδηγεί σε μείωση της έκφρασης του γονιδίου του ίδιου του υποδοχέα [411], ενώ ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει την πρωτεόλυση μέσω της οδού της ουμπικουιτίνης-πρωτεασώματος (ubiquitin-proteasome) [412]. Τέλος, τα επίπεδα των οιστρογονικών υποδοχέων ελέγχονται και από τις δράσεις άλλων ορμονών και αυξητικών παραγόντων, όπως για παράδειγμα τα προγεσταγόνα, τα οποία προκαλούν μείωση της έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων [413].



Εικόνα 4.5. Δράσεις των οιστρογόνων σε φυσιολογικό αγγειακό τοίχωμα και παρουσία αθηρωματικής νόσου [403].

ERα-οιστρογονικός υποδοχέας α , ERβ-οιστρογονικός υποδοχέας β , GPR30-διαμεμβρανικός οιστρογονικός υποδοχέας συνδεδεμένος με πρωτεΐνη G, CH₃-μεθύλιωση υποδοχέων, NM23-H2-πρωτεΐνη συνενεργοποιητής, MMP-μεταλλοπρωτεϊνάσες, iNOS-επαγωγή συνθάση μονοξειδίου αζώτου, E2-οιστρογόνα.

Από την άλλη η έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων σε αθηρωσκληρωτικά αγγεία φαίνεται να ρυθμίζεται και από άλλους παράγοντες. Η αυξημένη μεθυλίωση των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων παρουσία αθηροσκλήρωσης οδηγεί σε ελαττωμένη παραγωγή των υποδοχέων στα αγγεία [414-416]. Επιπλέον, η ύπαρξη αθηρωμάτωσης έχει συνδεθεί με την μειωμένη τοπική παραγωγή βιολογικά ενεργών οιστρογόνων σε αγγεία ανθρώπων [417], ενώ οι μεταβολίτες που παράγονται σε αθηρωματικές βλάβες φαίνεται να αναστέλλουν τοπικά τη δράση των οιστρογόνων [418]. Τέλος, η εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης στα στεφανιαία αγγεία σχετίζεται με μειωμένη παραγωγή και των άλλων ρυθμιστικών πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση των οιστρογονικών υποδοχέων [419] (**Εικόνα 4.5**).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

Ορμονική θεραπεία και καρδιαγγειακό σύστημα

5.1 Εισαγωγή

Η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης (hormone replacement therapy, *HRT* ή menopausal hormone therapy, *MHT*) σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες συνίσταται στη χορήγηση οιστρογόνων μόνο ή σε συνδυασμό με προγεσταγόνα για τον έλεγχο κατά κύριο λόγο των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας με οιστρογόνα μόνο συνταγογραφείται σε γυναίκες που έκαναν υστερεκτομή, ενώ στις υπόλοιπες γενικά χορηγείται συνδυασμένη θεραπεία (οιστρογόνο και προγεσταγόνο) προκειμένου να αποφευχθεί η υπερπλασία του ενδομητρίου. Τα από του στόματος χορηγούμενα σχήματα ορμονικής θεραπείας περιλαμβάνουν τα συζευγμένα οιστρογόνα ίππου (conjugated equine estrogen, *CEE*), θεική οιστρόνη, οιστριόλη, μικρομετροποιημένη (micronized) οιστραδιόλη, βαλερική οιστραδιόλη (estradiol valerate) κ.α. Εναλλακτικά τα διαδερμικά σχήματα χορήγησης ορμονικής θεραπείας περιέχουν επί το πλείστον οιστραδιόλη με τη μορφή αυτοκόλλητου επιθέματος, δερματικής γέλης, εμφυτεύματος βραδείας αποδέσμευσης ή ρινικού σπρέι. Τέλος, η ενδοκολπική χορήγηση ορμονικής θεραπείας περιλαμβάνει την τοποθέτηση δισκίων, δακτυλιδιών, κρεμών και πεσσών που αποδεσμεύουν οιστρογόνα τοπικά στον κόλπο με μικρή συστηματική απορρόφηση.

5.2 Οφέλη ορμονικής θεραπείας

Τα αποτελέσματα μετα-αναλύσεων τυχαιοποιημένων μελετών δείχνουν ότι η χορήγηση οιστρογόνων μόνο ή συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας μειώνει τα αγγειοκινητικά συμπτώματα (εξάψεις και εφιδρώσεις) σε εμμηνοπαυσιακές και περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά 65-90% [420]. Η ενδοκολπική χορήγηση οιστρογόνων αντιμετωπίζει αποτε-

λεσματικά την ξηρότητα του κόλπου και είναι ασφαλής σε γυναίκες με μήτρα καθώς η συστηματική απορρόφηση είναι ελάχιστη [421]. Η βελτίωση των υπολοίπων εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων (π.χ. κατάθλιψη, νευρική, αϋπνία, αρθραλγίες, πτωχή συγκέντρωση) με την ορμονική θεραπεία φαίνεται μάλλον να σχετίζεται με την υποχώρηση των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων, τη βελτίωση της σεξουαλικής λειτουργίας (μείωση ξηρότητας κόλπου, δυσπαρευνίας) και της ποιότητας του ύπνου [422].

Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας συνδυασμένης ή μη σχετίζεται επίσης με μειωμένο κίνδυνο καταγμάτων λόγω οστεοπόρωσης [423-425], καθώς φαίνεται να διατηρεί σε ασφαλή επίπεδα την οστική πυκνότητα [426]. Τα οιστρογόνα είναι μια θεραπεία που έχει αποδειχτεί ιδιαίτερα αποτελεσματική κυρίως σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι οποίες παρουσιάζουν οστεοπενία. Θεωρείται ότι το μέγιστο όφελος από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας στην πρόληψη της οστεοπόρωσης παρατηρείται όταν η έναρξη της ορμονικής θεραπείας γίνεται σε μεγάλη ηλικία και συνεχίζεται για μεγάλο χρονικό διάστημα [422]. Ωστόσο, δεδομένων των κινδύνων από τη μακρόχρονη χορήγηση οιστρογόνων σε ηλικιωμένες γυναίκες, οι σύγχρονες οδηγίες συνιστούν ότι η ορμονική θεραπεία μπορεί να χορηγείται για την πρόληψη της οστεοπόρωσης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με συνοδά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα [422].

Τα αποτελέσματα μεγάλων επιδημιολογικών και τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών δείχνουν ότι η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σχετίζεται με μείωση του απόλυτου κινδύνου εμφάνισης καρκίνου παχέως εντέρου [427, 428] κατά 6 περιπτώσεις στις 10,000 γυναίκες ανά χρόνο [428] χωρίς όμως να είναι γνωστός ο μηχανισμός δράσης στο έντερο.

5.3 Κίνδυνοι από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας

Η σχέση μεταξύ χορήγησης συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας και καρκίνου του μαστού αποτελεί το μεγαλύτερο πρόβλημα για τις γυναίκες και τους θεράποντες ιατρούς. Τα ευρήματα διαφόρων μελετών δείχνουν ότι η χορήγηση συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας για >5 έτη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού [428-430]. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας για λιγότερο από 5 έτη και η χορήγηση οιστρογόνων μόνο φαίνεται να σχετίζονται με μικρότερο κίνδυνο από ότι η χρήση συνδυασμένης θεραπείας >5 έτη [425, 428-430]. Ωστόσο, θα πρέπει να ξεκαθαριστεί ότι οι μελέτες αυτές πε-

ριελάμβαναν γυναίκες >50 ετών και επομένως δεν είναι γνωστή η επίδραση της ορμονικής θεραπείας στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού όταν χορηγηθεί σε νεότερες περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και μέχρι την ηλικία των 50 ετών. Η χρήση της ορμονικής θεραπείας σε γυναίκες με ατομικό ιστορικό καρκίνου μαστού πρέπει να αποφεύγεται καθώς σχετίζεται με 4πλάσιο κίνδυνο υποτροπής [431]. Επιπλέον, γυναίκες στις οποίες τίθεται η διάγνωση καρκίνου του μαστού πρέπει να διακόπτουν άμεσα τη χρήση ορμονικής θεραπείας [432].

Η χρήση μη συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας σχετίζεται επίσης με μια σχετική αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου κατά 1.5 έως 15 φορές ανάλογα με τη διάρκεια της θεραπείας [433, 434], ενώ ο αυξημένος κίνδυνος επιμένει για αρκετά χρόνια μετά τη διακοπή της αγωγής [435, 436]. Η ταυτόχρονη κυκλική χορήγηση προγεσταγόνων για τουλάχιστον 10 ημέρες το μήνα [437, 438] καθώς και η συνεχής χορήγηση συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας [439, 440] φαίνεται να παρέχουν καλύτερη προστασία στη μείωση του κινδύνου ενδομητρικής υπερπλασίας και κακοήθειας.

Η από του στόματος χορήγηση οιστρογόνων (και όχι η διαδερμική) έχει συσχετιστεί με μια αύξηση του κινδύνου για θρομβοεμβολική νόσο κατά 2-5 φορές [441-444], ο οποίος φαίνεται να είναι ακόμη μεγαλύτερος σε γυναίκες με ιστορικό θρομβοεμβολικής νόσου, μεγαλύτερης ηλικίας και παχύσαρκες [443]. Η χορήγηση προγεσταγόνων δεν φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης θρομβοεμβολικών επεισοδίων [444]. Ωστόσο, ο απόλυτος κίνδυνος θρομβοεμβολικών επεισοδίων φαίνεται να είναι μικρός καθώς η ορμονική θεραπεία σχετίζεται με ένα νέο περιστατικό για περίπου 5,000 γυναίκες που θα πάρουν θεραπεία [441, 442].

5.4 Ορμονική θεραπεία και αθηροσκλήρωση

5.4.1 Χορήγηση οιστρογόνων και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου

Θεωρείται ότι το 30% των αντι-αθηρογόνων δράσεων της χορήγησης οιστρογόνων οφείλεται στις επιδράσεις τους σε καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Η ορμονική θεραπεία μειώνει την ολική και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη και τη λιποπρωτεΐνη (α) με ποικίλες δράσεις στα τριγλυκερίδια και την υψηλής πυ-

κνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη ανάλογα και με την οδό χορήγησης της θεραπείας [29, 445-452]. Σε αρκετές μελέτες φαίνεται ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη βελτιώνεται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία [453, 454] χωρίς όμως αυτή η βελτίωση να εμφανίζεται με συνέπεια σε όλες τις μελέτες [455, 456]. Στη μελέτη HERS σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο, η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σχετίστηκε με καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο και μειωμένη επίπτωση νεοεμφανιζόμενου σακχαρώδη διαβήτη [457]. Παρομοίως σε μια μετα-ανάλυση πάνω από 100 μελετών η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σχετίστηκε επίσης με μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη αλλά και της εμφάνισης νεοεμφανιζόμενου διαβήτη, ενώ φάνηκε ότι η από του στόματος θεραπεία επέφερε μεγαλύτερες βελτιώσεις σε σχέση με τη διαδερμική οδό χορήγησης [458].

Περαιτέρω, η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σχετίζεται με μια ποικιλία δράσεων (επωφελών και επιβλαβών) στο ινωδολυτικό σύστημα, όπως η μείωση των επιπέδων του ινωδογόνου [446, 459-462], του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 [463-465] αλλά και της αντιθρομβίνης III [460, 465], της πρωτεΐνης S [446, 460] και του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου [463, 465]. Επιπλέον, η ορμονική θεραπεία έχει δείξει ότι μειώνει και τα επίπεδα του παράγοντα πήξης VII [459, 460]. Σε μια μετα-ανάλυση, η από του στόματος ορμονική θεραπεία σχετίστηκε με μεγαλύτερη μείωση του ινωδογόνου και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 αλλά και της πρωτεΐνης S σε σχέση με τη διαδερμική χορήγηση [458]. Η επίδραση των οιστρογόνων στο μηχανισμό της πήξης/ινωδόλυσης φαίνεται να εξαρτάται τελικά από το είδος του οιστρογόνου που χρησιμοποιείται, τη δοσολογία και τη διάρκεια της θεραπείας [373].

5.4.2 Άμεσες επιδράσεις οιστρογόνων σε υγιή αγγεία

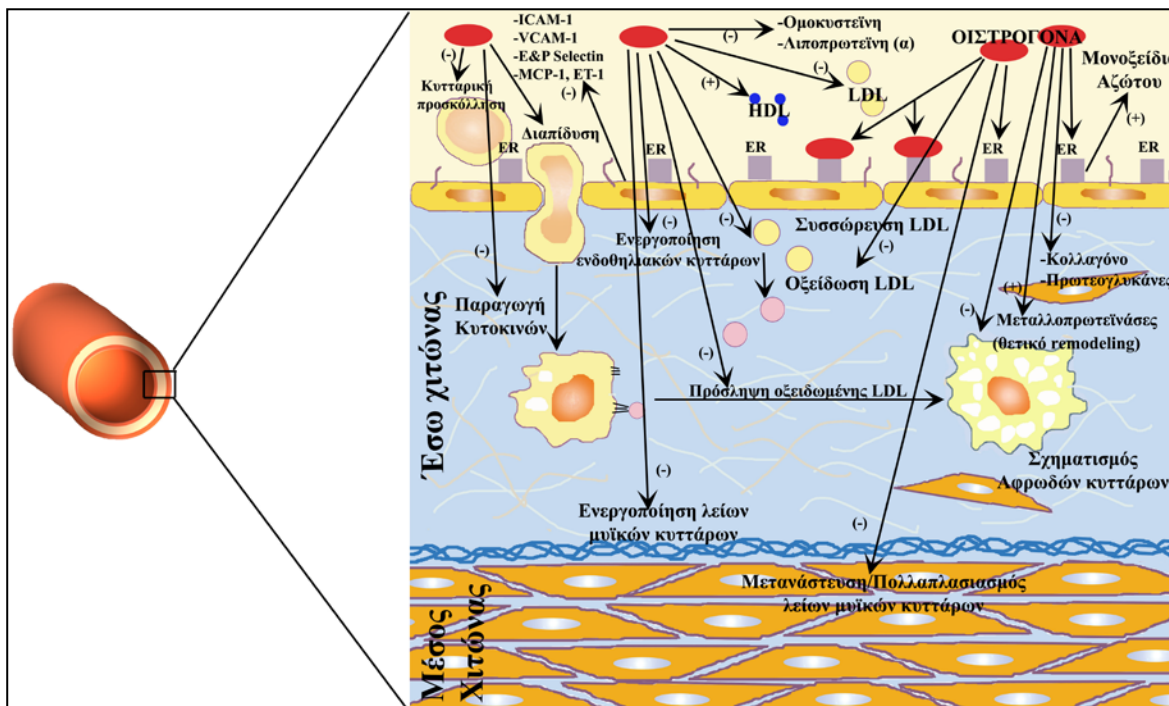
Οι επιδράσεις των οιστρογόνων στην αγγειακή λειτουργία εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ύπαρξη αθηροσκλήρωσης στο τοίχωμα του αγγείου [466, 467]. Ανάλογα με την κατάσταση του ενδοθηλίου τα οιστρογόνα παρουσιάζουν αντι-αθηρογόνες ή προ-αθηρογόνες επιδράσεις στο ενδοθήλιο [468]. Σε σχετικά υγιή αγγεία (δηλαδή αυτά με καθόλου ή μόνο πρώιμων σταδίων αθηροσκλήρωση), τα οιστρογόνα φαίνεται να προλαμβάνουν την ανάπτυξη και πρόοδο των αθηρωματικών βλαβών [373, 469] (**Εικόνα 5.1**). Αντι-

θέτως, σε αγγεία με εγκατεστημένες αθηρωματικές βλάβες, τα οιστρογόνα αποτυγχάνουν να αναστείλουν την πρόοδο της αθηροσκλήρωσης [466, 467, 470] (Εικόνα 5.2).

Μελέτες σε πιθήκους έχουν δείξει ότι η χορήγηση οιστρογόνων έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της προόδου της στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης σε αγγεία υγιή ή μόνο με πρώιμες αθηρωματικές βλάβες (μείωση επίπτωσης βλαβών κατά 70% και 50% αντίστοιχα) [471, 472]. Σε μια πιο πρόσφατη πειραματική μελέτη σε ποντίκια, η αθηρογένεση αναστάλθηκε όταν τα οιστρογόνα χορηγήθηκαν πριν την εμφάνιση των αθηρωματικών βλαβών και κυρίως κατά τη διάρκεια της ‘περιεμμηνόπαυσης’ [473]. Σε ωοθηκεκτομηθέντα ζώα τα οιστρογόνα φαίνεται ότι μειώνουν τόσο την επίπτωση νέων αθηρωματικών βλαβών όσο και το μέγεθος των νέων αθηρωματικών πλακών [469, 474, 475].

Τα οιστρογόνα έχει δείχτει επίσης ότι μειώνουν τη διαπερατότητα του αγγειακού τοιχώματος [476] οδηγώντας σε ελαττωμένη συγκέντρωση σωματιδίων χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών στο τοίχωμα ανεξάρτητα από τα επίπεδα χοληστερόλης στον ορό [477]. Η μειωμένη συγκέντρωση χοληστερόλης στο αγγειακό τοίχωμα έχει σαν αποτέλεσμα το μειωμένο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων [478] και λιπωδών γραμμώσεων [469, 479] στον έσω χιτώνα. Παράλληλα, τα οιστρογόνα αναστέλλουν την οξειδωτική τροποποίηση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών μέσω άμεσης αντιοξειδωτικής δράσης στα σωματίδια της χοληστερόλης [480, 481] καθώς και μέσω αυξημένης παραγωγής και ενεργοποίησης αντιοξειδωτικών ενζύμων [482].

Επιπλέον, τα οιστρογόνα μειώνουν την έκφραση αρκετών προ-φλεγμονωδών μορίων τα οποία είναι γνωστό ότι συμμετέχουν στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης στα αρχικά της στάδια, όπως η χημειοτακτική πρωτεΐνη μονοκυττάρων 1, η ιντερλευκίνη 6, το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, το αγγειακό μόριο προσκόλλησης 1, η E-Σελεκτίνη και η P-Σελεκτίνη [462, 483-491]. Σε πειραματική μελέτη, η χορήγηση 17β-οιστραδιόλης επέφερε μείωση της παραγωγής του μορίου sCD40L από ενδοθηλιακά κύτταρα [492], ενώ σε μια μικρή κλινική μελέτη η χορήγηση οιστραδιόλης δεν επέφερε καμιά μεταβολή στα επίπεδα του μορίου sCD40L [493]. Η επαγωγή της έκφρασης μεταλλοπρωτεϊνών του στρώματος στο αγγειακό τοίχωμα από τα οιστρογόνα μπορεί να είναι ευεργετική στα αρχικά στάδια της αθηρογένεσης καθώς μειώνεται η εναπόθεση ινώδους ιστού στην πλάκα και ευνοείται η θετική επαναδιαμόρφωση των αγγείων και η διατήρηση του μεγέθους του αυλού [494, 495]. Τέλος, η ενεργοποίηση και μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων στον έσω χιτώνα των αγγείων, ένα από τα κρίσιμα γεγονότα στην πορεία της αθηροσκλήρωσης, καταστέλλεται από τα οιστρογόνα είτε μέσω άμεσων επιδράσεων στους οιστρογο-



Εικόνα 5.1. Αντιαθηρογόνες δράσεις των οιστρογόνων σε αγγεία χωρίς ή με πρώιμα σημεία αθηρωμάτωσης [467].

ER-οιστρογονικοί υποδοχείς, HDL-χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, ICAM-1-διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, VCAM-1-αγγειακόκυτταρικό μόριο προσκόλλησης -1, E&P Selectins-E&P-Σελεκτίνες, MCP-1-Χημειοτακτική πρωτεΐνη μονοκυττάρων-1, ET-1-ενδοθηλίνη-1

νικούς υποδοχείς των λείων μυϊκών κυττάρων είτε μέσω αύξησης του μονοξειδίου του αζώτου [375].

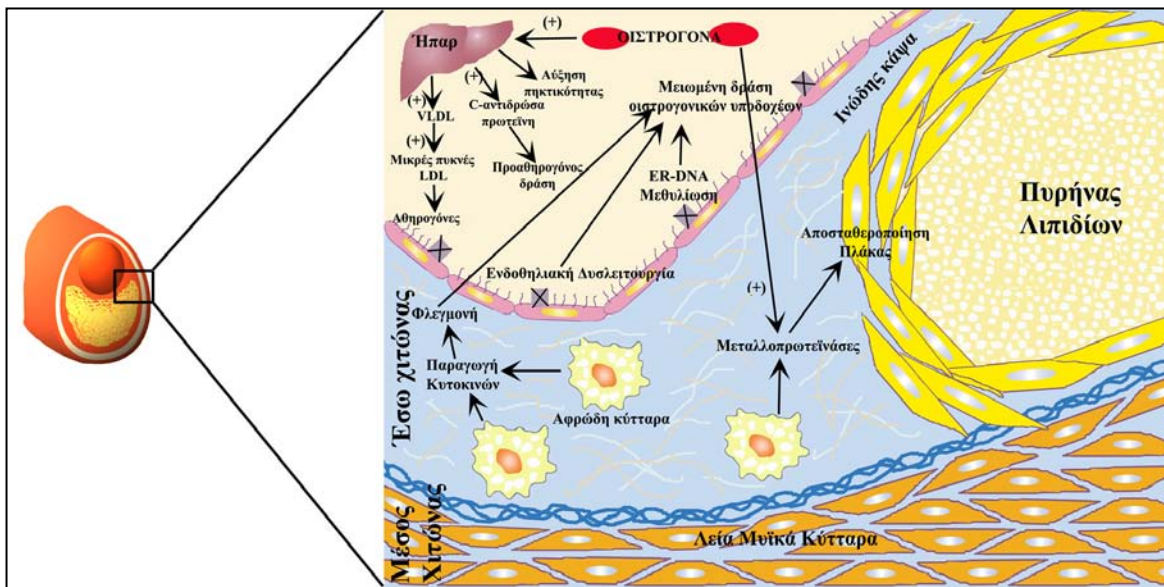
Μια ακόμη σημαντική επίδραση των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι η διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του ενδοθηλίου. Τα οιστρογόνα προσδένονται σε μεμβρανικούς οιστρογονικούς υποδοχείς ενεργοποιώντας μια αλληλουχία μοριακών αλληλεπιδράσεων (γενωμικές και μη γενωμικές δράσεις), οι οποίες οδηγούν σε αυξημένη ενεργοποίηση της ενδοθηλιακής συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου και τελικώς σε αυξημένη παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου [372, 391, 396]. Επιπρόσθετα τα οιστρογόνα εμφανίζουν αντιοξειδωτικές δράσεις στο ενδοθήλιο, μειώνουν την παραγωγή των ενεργών ριζών οξυγόνου και οδηγούν περαιτέρω σε αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου [375]. Από την άλλη η χορήγηση οιστρογόνων σχετίζεται με μείωση των επιπέδων ενδοθηλίνης 1 [496], ενώ η αυξημένη αναλογία μονοξειδίου του αζώτου προς ενδοθηλίνη 1 οδηγεί τελικά σε αγγειοδιαστολή [461, 497]. Η *in vitro* χορήγηση οιστρογόνων φαίνεται να επιταχύνει την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων, αναστέλλει την απόπτωσή τους και διατηρεί την ακεραιότητα της δομής και λειτουργίας των

ενδοθηλιακών κυττάρων μετά από τραυματικά και οξειδωτικά ερεθίσματα (οιστρογονο-εξαρτώμενες δράσεις) [498, 499]. Η χορήγηση οιστρογόνων οδηγεί επίσης σε κινητοποίηση και ενεργοποίηση προγονικών κυττάρων των ενδοθηλιακών κυττάρων (endothelial progenitor cells) με αποτέλεσμα τη διευκόλυνση της επανενδοθηλιοποίησης μετά από τραυματισμό των αρτηριών [500].

5.4.3 Επιβλαβείς επιδράσεις οιστρογόνων σε αθηρωματικά αγγεία

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις στη βιβλιογραφία ότι τα οιστρογόνα έχουν προ-φλεγμονώδεις και προ-αθηρογόνες δράσεις σε αγγεία με προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες (**Εικόνα 5.2**) [466, 467, 470]. Μελέτες σε ζώα υποδεικνύουν ότι τα οιστρογόνα δεν αναστέλλουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης όταν υπάρχουν ήδη προχωρημένες αθηρωματικές πλάκες [469, 475]. Η χορήγηση οιστρογόνων σε ωθηκεκτομηθέντες πιθήκους με αθηρωματικά αγγεία δεν προλαμβάνει τη συσσώρευση χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη στο τοίχωμα των αρτηριών [501]. Σε ένα μοντέλο κουνελιών, τα αθηρωματικά αγγεία με έκδηλη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και φλεγμονή δεν απαντούν στη χορήγηση οιστρογόνων και ίσως να είναι επιρρεπή σε προ-αθηρογόνες δράσεις των ορμονών [468]. Τέλος, μελέτες σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες δείχνουν ότι ενώ η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης επιβραδύνει την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης σε φυσιολογικές αρτηρίες [502], δεν έχει καμιά επίδραση σε αρτηρίες με αγγειογραφικά εμφανείς αθηρωματικές βλάβες [503].

Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι η χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα (με ή χωρίς ταυτόχρονη χορήγηση προγεσταγόνων) σχετίζεται με αυξημένη έκφραση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης [126, 485, 490, 504, 505], η οποία είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης και ένας καθιερωμένος δείκτης φλεγμονής. Η προκαλούμενη από τα οιστρογόνα αύξηση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης είναι πιο πιθανόν να οφείλεται στο φαινόμενο της πρώτης διόδου από το ήπαρ παρά σε άμεσες προ-φλεγμονώδεις επιδράσεις των οιστρογόνων αφού οι πιο πολλές μελέτες δεν έδειξαν παράλληλη αύξηση της ιντερλευκίνης 6, μια προ-φλεγμονώδη κυτοκίνη που επάγει την παραγωγή C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σε φλεγμονώδεις καταστάσεις [126, 489, 491, 505]. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η ίδια η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη μπορεί να έχει άμεσες προ-φλεγμονώδεις και προ-αθηρογόνες δράσεις [506]. Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ανιχνεύεται σε πρώιμες αθηρωματικές βλάβες,



Εικόνα 5.2. Προ-αθηρογόνες δράσεις των οιστρογόνων σε αγγεία με εγκατεστημένες αθηρωματικές βλάβες [467].

ER-οιστρογονικοί υποδοχείς, VLDL- χοληστερόλη πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών.

όπου μπορεί να ενεργοποιήσει το σύστημα του συμπληρώματος και να επάγει τη χημειοταξία των μονοκυττάρων, την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, μεταλλοπρωτεϊνών και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, ενώ από την άλλη μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου και την παραγωγή προστακυκλίνης [109, 507]. Επιπλέον, η ίδια η φλεγμονή φαίνεται να αναστέλλει τις δράσεις των οιστρογονικών υποδοχέων, γεγονός το οποίο σχετίζεται με την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κΒ, έναν μεταγραφικό παράγοντα με κεντρικό ρόλο στην επαγωγή της φλεγμονώδους απάντησης [508].

Μια ακόμη επιβλαβής δράση της χορήγησης των οιστρογόνων σε αγγεία με προχωρημένη αθηροσκλήρωση είναι η επαγωγή των μεταλλοπρωτεϊνών του στρώματος [490, 509, 510]. Τα ένζυμα αυτά μπορεί να δρουν επωφελώς στα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης, αλλά φαίνεται να έχουν καταστροφικό ρόλο σε προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες αδυνατίζουν την ινώδη κάψα των αθηρωματικών βλαβών οδηγώντας σε αποσταθεροποίηση και ρήξη των πλακών και την επαγωγή οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων [494].

Τέλος, η από του στόματος χορήγηση οιστρογόνων, μέσω αύξησης της παραγωγής των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών από το ήπαρ [445-447] οδηγεί στο σχηματισμό μικρών, πυκνών σωματιδίων χοληστερόλης χα-

μηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, τα οποία θεωρούνται πιο αθηρογόνα και σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων [511, 512].

5.5 Ορμονική θεραπεία και αγγειακή λειτουργία

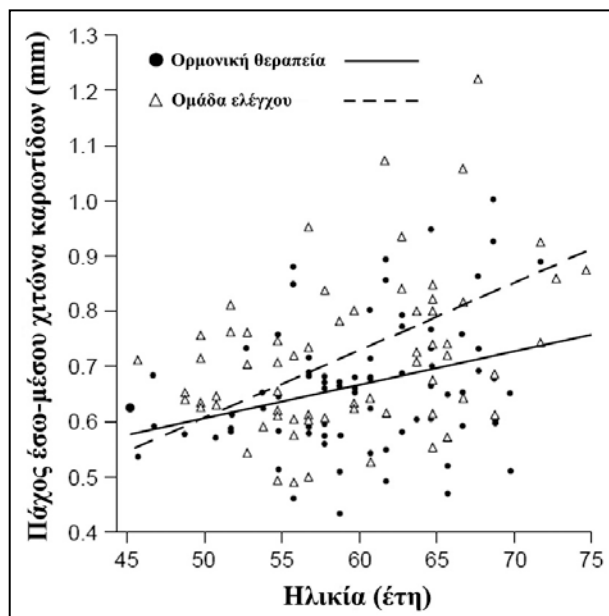
Η επίδραση της ορμονικής θεραπείας στην ενδοθηλιακή λειτουργία, όπως αυτή εκτιμάται με τη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχει μελετηθεί εκτενώς. Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει επωφελείς δράσεις της ορμονικής θεραπείας, οι οποίες φαίνεται να διατηρούνται σε διαφορετικές δοσολογίες, διαφορετικά σχήματα (οιστρογόνα μόνο ή οιστρογόνα/προγεσταγόνα) ή οδούς χορήγησης (από το στόμα ή διαδερμικά), τόσο σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [452, 484, 513-523] όσο και σε γυναίκες με λίγους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου [332, 524-527]. Παράλληλα, υπάρχουν και μελέτες που δεν δείχνουν βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας με την ορμονική θεραπεία σε ορισμένες ομάδες γυναικών, συμπεριλαμβανομένων και κάποιων υγιών εμμηνοπαυσιακών γυναικών [333, 461, 528, 529]. Η χορήγηση οιστρογόνων σε γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη έχει αποδειχτεί λιγότερο αποτελεσματική στη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας [530-532] παρά τη βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ σε αυτές τις γυναίκες, ενώ σε μια μελέτη οδήγησε σε περαιτέρω επιδείνωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας διαβητικών εμμηνοπαυσιακών γυναικών [533]. Επιπλέον, το ενδοθήλιο των αγγείων πιο ηλικιωμένων γυναικών με πολλούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου ή και γνωστή καρδιαγγειακή νόσο φαίνεται ότι δεν ανταποκρίνεται στην ορμονική θεραπεία [523, 534-536]. Εξάλλου, έχει δείχτεί ότι ο χρόνος από την εμμηνόπαυση είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής με την ορμονική θεραπεία, αφού η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μετά τη χορήγηση οιστρογόνων ήταν μεγαλύτερη σε γυναίκες κάτω από 5 έτη σε σύγκριση με αυτές που ήταν πάνω από 5 έτη στην εμμηνόπαυση [335].

Η επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε δείκτες αρτηριακής σκληρίας είναι λιγότερο καλά μελετημένη και με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες τόσο η από του στόματος όσο και η διαδερμική χορήγηση ορμονικής θεραπείας έχει δείχτεί ότι βελτιώνει την ταχύτητα παλμικού κύματος αορτής και την συστηματική αρτηριακή ενδοτικότητα [490, 519, 529], ενώ σε κάποιες μελέτες εμφάνιζε ουδέτερη δράση

[537] ή και επιδεινώνει [538] την αρτηριακή ενδοτικότητα και την αορτική ταχύτητα παλμικού κύματος.

Η ηλικιο-εξαρτώμενη αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων επιβραδύνεται με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (Εικόνα 5.3) [518, 539-542]. Η εξέλιξη της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης στις καρωτίδες επιβραδύνεται σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές

γυναίκες (μέση ηλικία 61 έτη) που έλαβαν 17β-οιστραδιόλη για 2 έτη στη μελέτη EPAT (Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis Trial) [502] γεγονός το οποίο αποδόθηκε μερικώς στη βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ στις γυναίκες αυτές [543]. Παρομοίως σε παλαιότερες μελέτες, η χορήγηση τόσο οιστρογόνων μόνο [544] όσο και σε συνδυασμό με προγεσταγόνα [545] επιβράδυνε την εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης σε υγιείς νέες εμμηνοπαυσιακές ή περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Αντιθέτως, η μελέτη PHOREA (Post-menopausal Hormone Replacement against Atherosclerosis), η οποία συμπεριέλαβε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αθηροσκλήρωσης, έδειξε ότι η χορήγηση 17β-οιστραδιόλης δεν κατάφερε να επιβραδύνει την εξέλιξη του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων [546]. Αντίστοιχα, σε γυναίκες με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο η χορήγηση ορμονικής θεραπείας δεν είχε καμιά επίδραση στην εξέλιξη του πάχους έσω-μέσου χιτώνα της καρωτίδας [547].



Εικόνα 5.3. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας επιβραδύνει την ηλικιοεξαρτώμενη αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [539].

5.6 Ορμονική θεραπεία και καρδιαγγειακά νοσήματα

Η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες αναμένονταν να μειώνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο κυρίως λόγω των επωφελών δράσεων των οιστρογόνων στο λιπιδαιμικό προφίλ και την ενδοθηλιακή λειτουργία. Παλαιότερες αλλά

και κάποιες νεότερες κλινικές μελέτες παρατήρησης έδειξαν σημαντική μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων σε γυναίκες που λάμβαναν ορμονική θεραπεία σε σύγκριση με γυναίκες που δεν λάμβαναν [548-551]. Από την άλλη ο αυξημένος καρδιαγγειακός κίνδυνος μετά από πρόωμη εμμηνόπαυση λόγω αφαίρεσης των ωοθηκών φαίνονταν ότι μειώνονταν σε γυναίκες που λάμβαναν ορμονική θεραπεία [552]. Τα αποτελέσματα αρκετών κλινικών μελετών παρατήρησης και μετα-αναλύσεων στα τέλη της δεκαετίας του '90 συμφωνούσαν με την παρατήρηση ότι η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε εμμηνόπαυσιες γυναίκες σχετίζεται με μια μείωση περίπου κατά 30-50 % του κινδύνου εμφάνισης θανατηφόρων καρδιαγγειακών συμβαμάτων [553, 554]. Η μελέτη Nurses' Health Study ήταν η μεγαλύτερη και πιο σημαντική μελέτη παρατήρησης που αφορούσε τη χρήση ορμονικής θεραπείας και την καρδιαγγειακή πρόγνωση και η οποία συμπεριέλαβε πάνω από 70,000 γυναίκες ηλικίας 30-55 ετών. Οι εμμηνόπαυσιες γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία είχαν 40 % μειωμένο κίνδυνο για μείζονα στεφανιαία συμβάματα, ακόμη και μετά από 20 χρόνια παρακολούθησης, καθώς και 35 % αυξημένο κίνδυνο εγκεφαλικών επεισοδίων κυρίως σε γυναίκες που χρησιμοποιούσαν υψηλές δόσεις και συνδυασμένη θεραπεία [555, 556]. Ωστόσο, μια μετα-ανάλυση που περιελάμβανε μελέτες παρατήρησης που έγιναν μέχρι το 2000 έδειξε όφελος με τη χρήση ορμονικής θεραπείας όσον αφορά την καρδιαγγειακή θνητότητα (σχετικός κίνδυνος, RR=0.75) και την επίπτωση στεφανιαίας νόσου (RR=0.74) το οποίο εξαφανίζονταν μετά από στάθμιση των αποτελεσμάτων για διαφορές σε κοινωνικοοικονομικούς παράγοντες και μείζονες παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (RR=1.02) [557]. Παρομοίως, σε μια πιο πρόσφατη μεγάλη καταγραφή γυναικών ηλικίας 51-69 ετών στη Δανία δεν ανεδείχθη καμιά συσχέτιση της χρήσης ορμονικής θεραπείας συνολικά με τον κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου (RR=1.03 95 % CI: 0.95-1.11) [558].

Προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα των μελετών παρατήρησης σχεδιάστηκαν τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες, οι οποίες παραδόξως απέτυχαν να επιβεβαιώσουν τον αναμενόμενο καρδιοπροστατευτικό ρόλο της ορμονικής θεραπείας στην πρωτογενή και δευτερογενή καρδιαγγειακή πρόληψη.

5.6.1 Ορμονική θεραπεία και πρωτογενής καρδιαγγειακή πρόληψη

Η μελέτη WHI (Women's Health Initiative) ήταν η μεγαλύτερη μελέτη που σχεδιάστηκε για τη διερεύνηση της επίδρασης της ορμονικής θεραπείας στην πρωτογενή καρδιαγγειακή πρόληψη. Η χορήγηση συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας (συζευγμένα οιστρογόνα ίππου 0.625 mg με οξική μεδροξυπρογεστερόνη 2.5 mg) σε φαινομενικά υγιείς εμμηνόπαυσιες γυναίκες (μέση ηλικία 63 ετών) που διατηρούσαν τη μήτρα οδήγησε σε αύξηση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο (HR 1.24, 95 % διάστημα εμπιστοσύνης 1.00-1.54) σε σύγκριση με τη χορήγηση εικονικού φαρμάκου μετά από 5.2 έτη παρακολούθησης, με πιο έκδηλη την αύξηση του κινδύνου κατά τον πρώτο χρόνο θεραπείας (HR 1.81, 95 % διάστημα εμπιστοσύνης 1.09-3.01) και παρά τις επωφελείς επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας στους περισσότερους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (μείωση ολικής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης, γλυκόζης και ινσουλίνης και αύξηση υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης) [559]. Από την άλλη το σκέλος της μελέτης που χρησιμοποιούνταν μόνο οιστρογόνα σε γυναίκες με υστερεκτομή δεν έδειξε καμιά συσχέτιση της θεραπείας με την επίπτωση στεφανιαίας νόσου [425], ενώ και οι δυο μορφές ορμονικής θεραπείας συνδυάζονταν με αύξηση της επίπτωσης των εγκεφαλικών επεισοδίων, της περιφερικής αρτηριακής νόσου και της εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης [425, 559-562]. Ωστόσο, μια υποομάδα γυναικών της μελέτης, οι οποίες ήταν νεότερες (ηλικίας 50-59 ετών) και εντός 10 ετών από την εμμηνόπαυση και έλαβαν οιστρογόνα, όχι μόνο δεν φαίνονταν να έχουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [559] αλλά παρουσίαζαν και μικρότερο φορτίο ασβέστωσης στεφανιαίων αρτηριών μετά τη λήψη ορμονικής θεραπείας [563]. Επιπλέον, μια πρόσφατη ανάλυση της WHI μελέτης [564] έδειξε ότι είναι πιθανόν αυτή η υποομάδα των νέων εμμηνόπαυσιακών γυναικών, οι οποίες άρχισαν την ορμονική θεραπεία κοντά στην εμμηνόπαυση, να αποκομίζουν καρδιαγγειακά οφέλη από τη θεραπεία. Οι γυναίκες αυτές εμφάνιζαν μεγαλύτερη μείωση των στεφανιαίων συμβαμάτων καθώς και των θανάτων από όλες τις αιτίες σε σχέση με γυναίκες που άρχισαν ορμονική θεραπεία όψιμα στην εμμηνόπαυση (πάνω από 10 έτη στην εμμηνόπαυση). Ωστόσο, το καρδιαγγειακό όφελος ακόμη και σε αυτόν τον πληθυσμό είναι μικρό αφού υπολογίστηκε ότι έπρεπε να δοθεί ορμονική θεραπεία σε 1,000 γυναίκες για την πρόληψη ενός καρδιαγγειακού συμβάματος [565].

Μια ακόμη πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία πρώιμα στην εμμηνόπαυση (μέση ηλικία 52 έτη) και για σύντομο χρο-

νικό διάστημα (2-3 έτη) εμφάνιζαν μικρότερη επίπτωση ολικής και καρδιαγγειακής θνητότητας (μέσος χρόνος παρακολούθησης 9.8 έτη), καθώς και μειωμένη βαρύτητα αορτικής αθηροσκλήρωσης σε σύγκριση με γυναίκες που είτε δεν έλαβαν ποτέ ορμονική θεραπεία είτε έλαβαν θεραπεία σε μεγαλύτερη ηλικία (μέση ηλικία 61 έτη) [566]. Επιπλέον, η συγκεντρωτική ανάλυση δυο μεγάλων τυχαιοποιημένων μελετών χορήγησης ορμονικής θεραπείας σε νέες, υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες για τον έλεγχο των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων ανέδειξε μια εξαιρετικά χαμηλή επίπτωση καρδιαγγειακών επεισοδίων α-κόμη και κατά το πρώτο έτος χρήσης ορμονικής θεραπείας [567]. Τέλος, μια πρόσφατη μετα-ανάλυση η οποία συμπεριέλαβε 22 μικρές τυχαιοποιημένες μελέτες ορμονικής θεραπείας και τη μελέτη WHI έδειξε ότι η ορμονική θεραπεία μειώνει κατά 30-40 % τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε νέες εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [568].

5.6.2 Ορμονική θεραπεία και δευτερογενής καρδιαγγειακή πρόληψη

Οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες που διερεύνησαν την επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων δεν έδειξαν και πάλι κανένα όφελος στην καρδιαγγειακή πρόληψη. Η μελέτη HERS (Heart and Estrogen/progestin Replacement Study) περιελάμβανε 2,763 εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (μέση ηλικία 67 έτη) με γνωστή νόσο καρδιαγγειακού συστήματος και δεν βρήκε καμιά επίδραση της συνεχούς συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας (συζευγμένα οιστρογόνα ίππου 0.625 mg με οξική μεδροξυπρογεστερόνη 2.5 mg για 6.8 έτη) στην καρδιαγγειακή θνητότητα και τα μη θανατηφόρα εμφράγματα μυοκαρδίου, παρά τη μείωση κατά 11% στη χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητα λιποπρωτεϊνών και αύξηση κατά 10% στη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών [569, 570]. Υπήρξε μόνο μια εμφανής τάση για περισσότερα καρδιαγγειακά συμβάματα (κατά 52%) κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους θεραπείας. Μια σημαντική αύξηση της επίπτωσης θρομβοεμβολικών επεισοδίων 2-3 φορές κατά τη διάρκεια της μελέτης στις γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία [570] ήταν επίσης εμφανής. Περαιτέρω ανάλυση 86 υποομάδων στη μελέτη HERS έδειξε ότι οι γυναίκες με υψηλότερα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης (α) (Lp(a) >25 mg/dl) αποτελούσαν μια πιθανή υποομάδα που ίσως να έχει μεγαλύτερα οφέλη από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας στην εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων [571].

Τα ευρήματα της μελέτης HERS επαναλήφθηκαν σε αρκετές μικρότερες τυχαιοποιημένες μελέτες δευτερογενούς καρδιαγγειακής πρόληψης της ορμονικής θεραπείας. Στις μελέτες ESPRIT (Estrogen in the Prevention of Re-Infarction Trial) [572] και ‘Paworth HRT study’ [573] η χορήγηση οιστραδιόλης από του στόματος ή διαδερμικά, σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου ή έστω γνωστής αγγειογραφικής στεφανιαίας νόσου, δεν μείωσε την επίπτωση νέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν επίσης ότι η ορμονική θεραπεία δεν επέφερε καμιά βελτίωση ούτε και στην αγγειογραφική εικόνα της στεφανιαίας νόσου σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με γνωστή στεφανιαία νόσο [503, 574, 575]. Τέλος, σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου η χορήγηση οιστραδιόλης δεν είχε καμιά επίδραση στην εμφάνιση νέων εγκεφαλικών επεισοδίων (μελέτη WEST-Women’s Estrogen for Stroke Trial) [576].

Με βάση τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών, οι πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας μόνο για την ανακούφιση των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων και την πρόληψη της οστεοπόρωσης και όχι για την πρόληψη (πρωτογενή ή δευτερογενή) των καρδιαγγειακών νοσημάτων [2, 577].

5.7 Αντικρουόμενα αποτελέσματα ορμονικής θεραπείας στην καρδιαγγειακή πρόληψη

Οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες συμπεριέλαβαν είτε γυναίκες με γνωστή καρδιαγγειακή νόσο (μελέτες δευτερογενούς πρόληψης όπως η HERS) ή γυναίκες χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο αλλά με υψηλό επιπολασμό παραγόντων κινδύνου όπως υπέρταση, κάπνισμα και παχυσαρκία (μελέτες πρωτογενούς πρόληψης όπως η WHI μελέτη) [559, 569]. Επομένως οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν σε αυτές τις μελέτες είτε είχαν εγκατεστημένες αθηρωματικές βλάβες είτε παρουσίαζαν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και αθηρωμάτωσης [53, 64, 84], συνθήκες που προδιαθέτουν στις προ-θρομβωτικές και προ-φλεγμονώδεις δράσεις της ορμονικής θεραπείας όπως προαναφέρθηκε.

Άλλοι παράγοντες που πιθανόν επηρεάζουν τις καρδιαγγειακές επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας είναι: 1) η ηλικία και τα χρόνια από την τελευταία έμμηνο ρύση των

γυναικών, 2) ο τύπος, η δόση και η οδός χορήγησης ορμονικής θεραπείας, και 3) γενετικοί παράγοντες που καθορίζουν τις δράσεις των οιστρογόνων (Κεφάλαιο 6).

5.7.1 Επιλογή χρόνου χορήγησης ορμονικής θεραπείας

Τα αποτελέσματα των πιο πρόσφατων μελετών όσον αφορά τις επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας στο ενδοθήλιο οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι επωφελείς, επιβλαβείς ή ουδέτερες δράσεις της ορμονικής θεραπείας στην αγγειακή λειτουργία εξαρτώνται πρωτίτως από την ηλικία της γυναίκας και το χρόνο από την τελευταία έμμηνο ρύση. Φαίνεται ότι η ορμονική θεραπεία βελτιώνει την αγγειακή λειτουργία κυρίως όταν χορηγείται σε σχετικά νέες εμμηνοπαυσιακές γυναίκες πρώιμα μετά την έναρξη της εμμηνόπαυσης [335, 523, 578]. Σε πειραματικές μελέτες, η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε πιο ηλικιωμένα, και όχι νέα στην ηλικία, ωοθηκεκτομηθέντα πειραματόζωα δεν πέτυχε να αποτρέψει το σχηματισμό νεοαθηρωμάτων (neointima) και τη φλεγμονώδη απάντηση στο αγγειακό τοίχωμα μετά από τραυματισμό με μπαλόνι σε φυσιολογικές αρτηρίες [579]. Επιπλέον, η χορήγηση 17β-οιστραδιόλης οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου και αγγειοδιαστολή μόνο όταν χορηγείται σε ωοθηκεκτομηθέντα πειραματόζωα άμεσα μετά την εμμηνόπαυση (4 μήνες) και όχι αργότερα (8 μήνες) [580]. Τα ευρήματα αυτά είναι ενδεικτικά ότι η ηλικία αλλά και η παρατεταμένη απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων, ακόμη και χωρίς την παρουσία αθηροσκλήρωσης, μπορούν να τροποποιήσουν την απόκριση των αγγείων στα εξωγενώς χορηγούμενα οιστρογόνα [579, 581].

Σε σχετικά υγιή αγγεία (δηλαδή αγγεία χωρίς ή με πρώιμα μόνο σημεία αθηροσκλήρωσης) τα οιστρογόνα φαίνεται να προλαμβάνουν την ανάπτυξη και εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών [373, 470, 502], ενώ με την παρουσία προχωρημένων αθηρωματικών βλαβών, τα οιστρογόνα αποτυγχάνουν να αναστείλουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης [469, 546] και μπορεί να οδηγήσουν ακόμη και σε οξεία καρδιαγγειακά συμβάματα [582]. Τα αποτελέσματα μελετών σε πειραματόζωα υποστηρίζουν αυτήν την υπόθεση, καθώς οι αντιαθηρωγόνες δράσεις των οιστρογόνων εξαφανίζονται όταν χορηγούνται αρκετό χρονικό διάστημα μετά την εγκατάσταση αθηρωματικών βλαβών στα αγγεία [470, 583]. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η προοδευτική απώλεια των λειτουργικών οιστρογονικών υποδοχέων προϋούσης της ηλικίας και παρουσία αθηροσκλήρωσης, λόγω μεθυλίωσης των ρυθμιστικών περιοχών των γονιδίων τους, μπορεί να συνεισφέρει στην μειωμένη αποτελεσματικότητα των οιστρογόνων σε αυτές τις καταστάσεις [414, 415].

Οι μελέτες παρατήρησης που έδειξαν επωφελείς επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας στην επίπτωση της στεφανιαίας νόσου συμπεριέλαβαν νεότερες (ηλικία μεταξύ 30 και 55 ετών) και σχετικά υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι οποίες έλαβαν ορμονική θεραπεία κυρίως για τον έλεγχο των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων ως επί το πλείστον εντός των πρώτων 2 ετών από την εμμηνόπαυση [556]. Στον αντίποδα ακόμη και οι τυχαιοποιημένες μελέτες πρωτογενούς πρόληψης που δεν ανέδειξαν κανένα όφελος της ορμονικής θεραπείας στην επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων συμπεριέλαβαν πιο ηλικιωμένες γυναίκες (μέση ηλικία 65 ετών), η πλειονότητα των οποίων ήταν πλέον των 10 ετών από την τελευταία έμμηνο ρύση [559]. Στην ηλικία των 50-51 ετών, οπότε και οι γυναίκες εισέρχονται κατά μέσο όρο στην εμμηνόπαυση, ήδη περίπου το 50% των γυναικών παρουσιάζουν ασυμπτωματικές αγγειακές βλάβες σε πολύ πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης, ενώ οι πιο ηλικιωμένες γυναίκες γύρω στην ηλικία των 65 ετών παρουσιάζουν μεγαλύτερο επιπολασμό παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και εμφανίζουν πιο προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες [582]. Στη μελέτη WHI οι γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία ήταν υπέρτασικές 36 %, πρώην ή νυν καπνίστριες 49 % και παχύσαρκες 34 % [559] και γι' αυτούς τους λόγους ίσως να μην ήταν οι κατάλληλες υποψήφιες για τη λήψη ορμονικής θεραπείας. Σε μια μεγάλη μελέτη παρατήρησης 70,000 περίπου εμμηνοπαυσιακών γυναικών η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε νέες σε σύγκριση με πιο ηλικιωμένες γυναίκες σχετιζόταν με 45 % μικρότερη ολική και καρδιαγγειακή θνητότητα [584].

Ακόμη και μέσα στην ίδια τη μελέτη WHI, οι καρδιαγγειακές επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας φαίνεται να διαφέρουν όταν χορηγείται κατά τη διάρκεια της περιεμμηνόπαυσης ή πρώιμα στην εμμηνόπαυση από ότι αν χορηγηθεί όψιμα στην εμμηνόπαυση. Στην υποομάδα των γυναικών ηλικίας 50-59 ετών (περίπου 30 % των συμμετεχόντων) και στην υποομάδα των γυναικών που ήταν <10 έτη στην εμμηνόπαυση, η χορήγηση ορμονικής θεραπείας (συνδυασμένη ή μόνο οιστρογόνα) δεν φαίνονταν να σχετίζεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σύγκριση με τη χρήση πλασματικού φαρμάκου [559, 564]. Επιπλέον, στην ίδια υποομάδα γυναικών η χορήγηση οιστρογόνων σχετιζόταν με μια σημαντική μείωση του ασβεστίου των στεφανιαίων αρτηριών σε σύγκριση με τη χρήση πλασματικού φαρμάκου [563]. Ωστόσο η μελέτη WHI δεν ήταν σχεδιασμένη και επομένως δεν είχε την απαραίτητη δύναμη στατιστικά να εκτιμήσει και να αναδείξει πιθανά οφέλη της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες της συγκεκριμένης ηλικιακής ομάδας [585].

Μια μετα-ανάλυση η οποία περιελάμβανε την WHI μελέτη και άλλες 22 μικρότερες τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξε ότι η ορμονική θεραπεία είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση 30-40 % του κινδύνου στεφανιαίας νόσου σε νεότερες εμμηνόπαυσιακές γυναίκες (<10 έτη στην εμμηνόπαυση ή <60 ετών), ενώ σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας προκάλλουσε αύξηση περίπου 50 % των στεφανιαίων συμβαμάτων κατά το πρώτο έτος θεραπείας και ακολούθως μείωση των συμβαμάτων κατά περίπου 20 % από το δεύτερο έτος θεραπείας και μετά [568]. Μεμονωμένες μελέτες χορήγησης ορμονικής θεραπείας σε νέες (μέση ηλικία 52-54 ετών), υγιείς εμμηνόπαυσιακές γυναίκες (συνήθως για τον έλεγχο των εμμηνόπαυσιικών συμπτωμάτων) και για σύντομο χρονικό διάστημα (1-3 έτη) έδειξαν χαμηλή επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων ακόμα και μέσα στο πρώτο έτος θεραπείας [567], και μικρότερη ολική και καρδιαγγειακή θνητότητα μετά από μακροχρόνια παρακολούθηση σε σύγκριση με γυναίκες που δεν χρησιμοποίησαν ορμονική θεραπεία ή έλαβαν ορμονική θεραπεία σε μεγαλύτερη ηλικία (όψιμη εμμηνόπαυση, μέση ηλικία 61 έτη) [566].

Επομένως, ίσως θα ήταν λάθος να γενικευτούν τα συμπεράσματα που προήλθαν από τις τυχαιοποιημένες μελέτες και για την περίπτωση νεότερων περιεμμηνόπαυσιικών γυναικών ή γυναικών πρώιμης εμμηνόπαυσης οι οποίες θεωρείται ότι μπορούν να αποκομίσουν καρδιαγγειακά οφέλη από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας [559, 563, 566]. Δυο εν εξελίξει κλινικές μελέτες (ELITE-Early versus Late Intervention Trial with Estradiol και KEEPS-Kronos Early Estrogen Prevention Study) που αποσκοπούν να διερευνήσουν τις επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας στην εξέλιξη της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης θεωρείται ότι θα βοηθήσουν στη λήψη αποφάσεων για τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας [586, 587].

5.7.2 Τύπος, Δοσολογία και Οδός χορήγησης οιστρογόνων

Οι μελέτες παρατήρησης και προοπτικές μελέτες που έδειξαν ότι η ορμονική θεραπεία προστατεύει από καρδιαγγειακά νοσήματα περιελάμβαναν κυρίως τη χορήγηση οιστρογόνων μόνο ή οιστρογόνων και προγεσταγόνων σε κυκλικά σχήματα [558], ενώ οι περισσότερες τυχαιοποιημένες μελέτες που δεν έδειξαν καμιά επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα περιελάμβαναν τη χορήγηση συνεχούς συνδυασμένης ορμονικής θεραπείας. Επιπλέον, τα φαρμακευτικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν στις τυχαιοποιημένες μελέ-

τες αποτελούνταν κυρίως από συζευγμένα οιστρογόνα ίππου και συνθετικά προγεσταγόνα όπως η οξική μεδροξυ-προγεστερόνη (medroxyprogesterone acetate, *MPA*).

Το κύριο ενδογενές οιστρογόνο, το οποίο ελαττώνεται κατά την εμμηνόπαυση είναι η οιστραδιόλη. Σε πειραματικές και κλινικές μελέτες που έδειξαν καρδιαγγειακά οφέλη με την ορμονική θεραπεία, η 17β-οιστραδιόλη ήταν το οιστρογόνο που χρησιμοποιούνταν πιο συχνά [388, 462, 474, 476, 478, 479, 487, 499, 500, 588], ενώ οι περισσότερες τυχαιοποιημένες μελέτες (HERS, WHI) για την ορμονική θεραπεία περιλάμβαναν τη χρήση συζευγμένων οιστρογόνων ίππου σε συνδυασμό με διάφορα προγεσταγόνα. Ωστόσο, η οιστραδιόλη και τα συζευγμένα οιστρογόνα ίππου παρουσιάζουν διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης. Τα συζευγμένα οιστρογόνα ίππου αποτελούνται από ένα μίγμα τουλάχιστον 10 διαφορετικών οιστρογόνων, αρκετών ανδρογόνων, προγεσταγόνων και άλλων ουσιών με άγνωστες δράσεις στα αγγεία (**Πίνακας 5.1**) [581, 589]. Τα βασικά οιστρογονικά συστατικά των συζευγμένων οιστρογόνων είναι ειδικά οιστρογόνα του ίππου και ασθενείς οιστρογονικές ουσίες, όπως η οιστρόνη και η οιστριόλη, ενώ δεν περιέχουν οιστραδιόλη. Οι ουσίες αυτές επιδεικνύουν διαφορετική ή/και άγνωστη ικανότητα πρόσδεσης στους οιστρογονικούς υποδοχείς, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγεί σε απρόβλεπτες οιστρογονικές δράσεις στα αγγεία *in vivo* κυρίως με την παρουσία αθηροσκλήρωσης [589]. Η οιστραδιόλη θεωρείται ότι μπορεί να προστατεύει από καρδιαγγειακές νόσους μέσω αναστολής της απελευθέρωσης και της δράσης των κατεχολαμινών, μειώνοντας την επαγόμενη από την νορεπινεφρίνη αγγειοσύσπαση και τον τόνο του συμπαθητι-

Πίνακας 5.1. Συστατικά συζευγμένων οιστρογόνων ίππου [589].

<i>Οιστρογόνα</i>
Sodium-estrone sulfate
Sodium-Equilinsulfate
Sodium-17α-Dihydroequilinsulfate
Sodium-17α-Estradiolsulfate
Sodium-17β-Dihydroequilinsulfate
Sodium-17α-Dihydroequileninsulfate
Sodium-17β-Hydroequilinsulfate
Sodium-Equileninsulfate
Sodium-17β-Estradiolsulfate
Sodium-delta 8,9-Dehydroestrone sulfate
<i>Προγεσταγόνα</i>
5α-Pregnane-3β, 20β-diol
5α-Pregnane-3β, 16α, 20β-triol
5α-Preg-16-en-3β-ol-20-one
5α-Pregnane-3 β-ol-20-one
Sodium-4-Pregene-20-ol-3-one-Sulfate
3β-Hydroxy-5(10), 7-estradiene 17-one-3-Sulfate
<i>Ανδρογόνα</i>
5α-Androstane-3β, 17α-diol
5α-Androstane-3β, 16β-diol
5α-Androstane-3β, 16α-diol
5α-Androstane-3β-ol, 16-one
<i>Άλλα συστατικά</i>
5,7,9 (10) Estradiene-3β, 17β-diol
17α-Dihydro-delta 8,9-Dehydroestrone
17β-Dihydro-delta 8,9-Dehydroestrone
5,7,9 (10) Estratriene-3β-ol-17-one
2-Hydroxyestrone
2-Methoxyestrone

κού νευρικού συστήματος, ενώ τα συζευγμένα οιστρογόνα ίππου δεν παρουσιάζουν τέτοιες δράσεις [590, 591]. Σε πρόσφατη πειραματική μελέτη σε ενδοθηλιακά κύτταρα ανθρώπου η χορήγηση συζευγμένων οιστρογόνων ίππου οδήγησε σε μείωση της παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου και της μεταγραφής του γονιδίου της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου, ενώ η χορήγηση 17β-οιστραδιόλης σχετιζόταν με αύξηση της παραγωγής τόσο της συνθάσης όσο και του μονοξειδίου του αζώτου [592]. Επίσης, θεωρείται ότι κάποιιοι από τους μεταβολίτες της οιστραδιόλης είναι υπεύθυνοι για την αναστολή του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων και της υπερπλασίας του έσω χιτώνα, κάτι που δεν επιτυγχάνεται με τη χρήση των συζευγμένων οιστρογόνων ίππου [593, 594]. Επιπλέον, η οιστραδιόλη, σε αντίθεση με τα συζευγμένα οιστρογόνα ίππου, φαίνεται να οδηγεί σε μείωση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης χωρίς να αυξάνει παράλληλα τη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη [461, 462]. Σε μια σουηδική μελέτη, ο κίνδυνος για έμφραγμα του μυοκαρδίου μειώθηκε κατά 48 % με τη χρήση από του στόματος οιστραδιόλης 2 mg και μόνο κατά 15 % με τη χρήση συζευγμένων οιστρογόνων ίππου 0,625 mg [595]. Αντίστοιχα σε άλλες μελέτες η χορήγηση συζευγμένων οιστρογόνων ίππου σε σύγκριση με φυσικά οιστρογόνα συσχετιζόταν με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων (εγκεφαλικού, εμφράγματος μυοκαρδίου και θρομβοεμβολικών επεισοδίων) σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λάμβαναν ορμονική θεραπεία [596, 597].

Ένας ακόμη παράγοντας που μπορεί να τροποποιήσει τις καρδιαγγειακές επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας είναι η δοσολογία των οιστρογόνων. Σε κλινικές μελέτες η μεγαλύτερη δοσολογία συζευγμένων οιστρογόνων (0.625 mg) σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης εγκεφαλικών επεισοδίων κατά 30 % σε σύγκριση με χαμηλότερες δόσεις [556]. Η χαμηλή δοσολογία οιστρογόνων φαίνεται να διατηρεί τις επωφελείς δράσεις των υψηλών δόσεων όσον αφορά τα λιπίδια, την ενδοθηλιακή λειτουργία ή προαθηρογόνους παράγοντες [452], ενώ δεν έχει καμιά επίδραση σε φλεγμονώδεις δείκτες όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η ιντερλευκίνη 6 [452, 518, 520, 522, 598] ή οι μεταλλοπρωτεΐνάσες [599] και παρουσιάζει λιγότερες παρενέργειες/ανεπιθύμητες ενέργειες σε σύγκριση με τη συνήθη δοσολογία [520].

Η οδός χορήγησης της ορμονικής θεραπείας είναι ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας ο οποίος πιθανόν επηρεάζει τις καρδιαγγειακές επιδράσεις των οιστρογόνων. Παρά την ύπαρξη μεμονωμένων μελετών που δείχνουν ότι η διαδερμική ορμονική θεραπεία δεν έχει τις επωφελείς επιδράσεις των από του στόματος ορμονών στο καρδιαγγειακό σύστημα [513], τα ευρήματα των περισσότερων κλινικών μελετών συνιστούν ότι η διαδερμική ορ-

μονική θεραπεία είναι αποτελεσματική στη βελτίωση της αγγειακής λειτουργίας χωρίς ωστόσο καμιά σημαντική αλλαγή στα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και των μεταλλοπρωτεΐναιών [488, 490, 504, 527, 600, 601] ή των παραγόντων πήξης/ινωδόλυσης [464, 465, 602, 603]. Η οδός χορήγησης των οιστρογόνων σχετίζεται και με τις επιδράσεις των ορμονών στα λιπίδια καθώς η διαδερμική χορήγηση οιστρογόνων επιφέρει μικρότερες μεταβολές στις συγκεντρώσεις των λιπιδίων σε σύγκριση με την από του στόματος χορήγηση ορμονικής θεραπείας [447]. Από την άλλη η διαδερμική ορμονική θεραπεία δεν φαίνεται να προκαλεί αύξηση του κινδύνου θρομβοεμβολικών επεισοδίων [604] και εγκεφαλικών [605] σε σύγκριση με την από του στόματος χορήγηση των ορμονών. Σε μια μεγάλη μελέτη παρατήρησης μόνο η διαδερμική ορμονική θεραπεία με οιστρογόνα σχετίστηκε με μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος μυοκαρδίου σε σύγκριση με τη μη χορήγηση ορμονικής θεραπείας ή τη χορήγηση από του στόματος οιστρογόνων [558].

Τέλος, κάποιες από τις επωφελείς δράσεις των οιστρογόνων θεωρείται ότι αναστέλλονται από την προσθήκη προγεσταγόνων, τα οποία είναι γνωστό ότι ελαττώνουν την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων [565]. Έχει βρεθεί ότι το όφελος που παρατηρείται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες από τη χορήγηση διαδερμικής χορήγησης οιστρογόνων στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου εξαφανίζεται με την προσθήκη προγεσταγόνου [558]. Πειραματικές και κλινικές μελέτες υποδεικνύουν ότι η χρήση προγεσταγόνων μπορεί να επηρεάζει τις δράσεις των οιστρογόνων στα λιπίδια, τη λιποπρωτεΐνη (α), το ινωδογόνο, τον αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή [447, 450, 485, 486, 515, 523, 606, 607]. Παρά το γεγονός ότι σε αρκετές μελέτες κατά το παρελθόν δεν φάνηκε καμιά διαφορά στις καρδιαγγειακές επιδράσεις των διαφόρων προγεσταγόνων [514], η οξική μεδροξυπρογεστερόνη, το προγεσταγόνο που χρησιμοποιήθηκε στις περισσότερες μεγάλες κλινικές μελέτες καρδιαγγειακής πρόληψης με την ορμονική θεραπεία, φαίνεται ότι ανταγωνίζεται τις επωφελείς δράσεις των οιστρογόνων στη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και την επιβράδυνση της αθηροσκλήρωσης [471, 515, 606, 608, 609]. Η χορήγηση μικρότερων δόσεων οξικής μεδροξυπρογεστερόνης θεωρείται ότι δεν έχει τις επιβλαβείς δράσεις των μεγαλύτερων δόσεων [610, 611]. Αντιθέτως, η χορήγηση προγεστερόνης δεν φαίνεται να έχει τέτοια επιβλαβή αποτελέσματα. Η προγεστερόνη δεν επηρεάζει τις επωφελείς επιδράσεις των οιστρογόνων στην ενδοθηλιακή λειτουργία [524, 612], τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης και τη συσσώρευση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών στο αρτηριακό τοίχωμα [477, 613].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο

Γενετικοί πολυμορφισμοί οιστρογονικών υποδοχέων και καρδιαγγειακό σύστημα

6.1 Εισαγωγή

Οι οιστρογονικοί υποδοχείς α και β μεσολαβούν τις επιδράσεις των οιστρογόνων ρυθμίζοντας την έκφραση γονιδίων υπεύθυνων για τις καρδιοπροστατευτικές δράσεις και τον έλεγχο της αγγειακής λειτουργίας. Η σημασία των οιστρογονικών υποδοχέων στις καρδιαγγειακές δράσεις των οιστρογόνων έγινε αντιληπτή αρχικά με τη διαπίστωση ότι η καταστροφική μετάλλαξη και των δυο γονιδίων του οιστρογονικού υποδοχέα α σε άντρα 31 ετών σχετιζόνταν με την ύπαρξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας των στεφανιαίων αγγείων και την εμφάνιση πρώιμης στεφανιαίας νόσου [404, 614]. Στο παρελθόν διάφοροι πολυμορφισμοί των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων έχουν συσχετιστεί επίσης με αυξημένη επίπτωση καρκίνου μαστού [615-617] και ενδομητρίου [618, 619] καθώς και καταγμάτων ισχίου [620, 621], αν και οι μελέτες έχουν δείξει μάλλον αντικρουόμενα αποτελέσματα [622].

Τα τελευταία περίπου 10 χρόνια υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναδεικνύουν τη σημαντική συσχέτιση μεταξύ αρκετών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων α και β με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων ή/και των πιο σημαντικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [623-625]. Οι πολυμορφισμοί των οιστρογονικών υποδοχέων τροποποιώντας τη δράση των ενδογενών οιστρογόνων σε ιστικό επίπεδο θεωρείται ότι θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης και επομένως να αποτελούν έναν δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου κυρίως σε γυναίκες. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης, παρά το γεγονός ότι φαίνεται να έχει επωφελείς επιδράσεις στο λιπιδαιμικό προφίλ των γυναικών και την ενδοθηλιακή λειτουργία, δεν έχει δείξει σαφείς επωφελείς επιδράσεις και στη μείωση της επίπτωσης των καρδιαγγειακών

συμβαμάτων. Η ύπαρξη συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων πιθανολογείται ότι μπορεί να τροποποιήσει την απάντηση των γυναικών στην οιστρογονική θεραπεία εξηγώντας εν μέρει τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των κλινικών μελετών καρδιαγγειακής πρόληψης της ορμονικής θεραπείας [626-628].

6.2 Γενετικοί πολυμορφισμοί οιστρογονικού υποδοχέα α

Οι πιο καλά μελετημένοι πολυμορφισμοί του οιστρογονικού υποδοχέα α είναι δυο πολυμορφισμοί που συναντώνται στο πρώτο ιντρόνιο (intron) του γονιδίου του οιστρογονικού υποδοχέα α και βρίσκονται σε ανισοποιο σύνδεση (linkage disequilibrium) μεταξύ τους, δηλαδή υπάρχουν συνδυασμοί των αλληλίων των δυο πολυμορφισμών οι οποίοι παρατηρούνται σε μεγαλύτερη συχνότητα από ότι θα αναμένονταν. Οι δυο αυτοί πολυμορφισμοί του οιστρογονικού υποδοχέα α έχουν πάρει τα ονόματά τους από τα περιοριστικά ένζυμα που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των συγκεκριμένων αλληλουχιών στα γονίδια - *PvuII* 454-397 T>C (ή IVS1-401 ή rs 2234693) και *XbaI* 454-351 A>G (ή IVS1-354 ή rs 9340799) - και έχουν συσχετιστεί με την επίπτωση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και των καρδιαγγειακών νοσημάτων, χωρίς όμως να υπάρχει σαφής διαχωρισμός ως προς το ποιο αλληλίο είναι προστατευτικό. Είναι γνωστό τα αλληλία *PvuII* T και *XbaI* A βρίσκονται συνήθως μαζί όπως αντίστοιχα και τα αλληλία *PvuII* C και *XbaI* G [624-627].

Σε γυναίκες > 65 ετών η παρουσία του γονότυπου *PvuII* CC σχετίζεται με υψηλότερο δείκτη μάζας σώματος καθώς και μεγαλύτερη πρόσληψη βάρους προϊούσης της ηλικίας σε σύγκριση με τους άλλους γονότυπους του συγκεκριμένου πολυμορφισμού [629]. Αντίστοιχα, η παρουσία του *XbaI* GG γονότυπου σχετίζονταν με την εμφάνιση κεντρικής παχυσαρκίας σε γυναίκες μέσης ηλικίας [630]. Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με υπερχοληστερολαιμία και γονότυπους *PvuII* CC και *XbaI* GG εμφάνιζαν χαμηλότερα επίπεδα υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης σε σχέση με τους υπόλοιπους γονότυπους των πολυμορφισμών [631]. Αντίθετα, σε άλλες μελέτες φαίνεται ότι προστατευτικά είναι τα αλληλία *PvuII* C και *XbaI* G καθώς σχετίζονταν με χαμηλότερη συγκέντρωση των πιο αθηρογόνων μικρών πυκνών σωματιδίων χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊ-

νών (small dense LDL-c) [632] και χαμηλότερα επίπεδα αγγειακού μορίου προσκόλλησης-1 [633].

Σε μια υποανάλυση της μελέτης Framingham, άτομα με το γονότυπο *PvuII CC* του οιστρογονικού υποδοχέα α παρουσίαζαν αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος μυοκαρδίου [624, 634] και εγκεφαλικού επεισοδίου [635] αν και τα αποτελέσματα αυτά οφείλονταν κυρίως στην ύπαρξη σημαντικής συσχέτισης μόνο μεταξύ των αντρών. Η παρουσία των αλληλίων *PvuII C* και *XbaI G* έχει συσχετιστεί επίσης και με την ύπαρξη και βαρύτητα της αγγειογραφικής στεφανιαίας νόσου σε μικτό πληθυσμό αντρών και γυναικών [636, 637], ενώ σε μια νεκροτομική μελέτη η παρουσία του αλληλίου *PvuII C* συνδέονταν με την ύπαρξη επιπλεγμένων και θρομβωτικών βλαβών σε άντρες που πέθαναν από οξεία στεφανιαία επεισόδια [623]. Αντιθέτως, στη μελέτη Rotterdam, σε πληθυσμό γυναικών η παρουσία των αλληλίων *PvuII T* και *XbaI A* ήταν αυτή που σχετιζονταν με αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος μυοκαρδίου [625]. Επιπλέον, έχει δείχτει ότι σε γυναίκες ο γονότυπος *PvuII TT* αποτελεί ανεξάρτητα προγνωστικό παράγοντα της επαναστένωσης στεφανιαίων αγγείων μετά από αγγειοπλαστική με διατατήρα (stent angioplasty) [638]. Διαπιστώνεται δηλαδή ότι η συμπεριφορά των αλληλίων των πολυμορφισμών αυτών ίσως είναι διαφορετική μεταξύ αντρών και γυναικών.

Ωστόσο, πιο πρόσφατες, μεγαλύτερες και στατιστικά πιο ισχυρές μελέτες δεν ανέδειξαν καμιά συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω αναφερόμενων γενετικών πολυμορφισμών του οιστρογονικού υποδοχέα α και της παρουσίας παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [639, 640]. Σε μια μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη περίπου 3,500 εμμηνοπαυσιακών γυναικών 60-79 ετών κανείς από τους πολυμορφισμούς του γονιδίου του οιστρογονικού υποδοχέα α δεν σχετιζονταν με τα επίπεδα κλασικών και νεότερων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [639]. Αντίστοιχα σε μεγάλες καταγραφές (registries) πληθυσμών δεν ανεδείχθη καμιά συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω γενετικών πολυμορφισμών και την παρουσία καρδιαγγειακών νοσημάτων (στεφανιαίας νόσου, εγκεφαλικών επεισοδίων, θρομβοεμβολικής νόσου) [622, 641-643].

Η επίδραση των γενετικών πολυμορφισμών του οιστρογονικού υποδοχέα α στις δράσεις της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα έχει μελετηθεί σε σημαντικό βαθμό. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με γνωστή στεφανιαία νόσο, η παρουσία του γονότυπου *PvuII CC* σχετιζονταν με ενισχυμένη επίδραση της ορμονικής θεραπείας στα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης (αύξηση) [626, 644], της E-Σελεκτίνης (μείωση) [627] και της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (αύξηση)

[644]. Παράλληλα, οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες με γονότυπο *PvuII CC* παρουσιάζουν μεγαλύτερη επιβράδυνση της αθηροσκλήρωσης (καρωτίδας-αορτής) με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με την παρουσία άλλων γονοτύπων [628]. Αντιθέτως, σε μια μόνο μικρή μελέτη εμμηνόπαυσιακών γυναικών ο γονότυπος *PvuII TT* ήταν αυτός που συνδέονταν με ευνοϊκότερη επίδραση της ορμονικής θεραπείας στα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης [645]. Ωστόσο, σε αρκετές νεότερες μεγάλες μελέτες δεν παρατηρήθηκε καμιά συσχέτιση των γενετικών πολυμορφισμών του οιστρογονικού υποδοχέα α με τις καρδιαγγειακές δράσεις της ορμονικής θεραπείας [639, 646]. Σε μια υποανάλυση της μελέτης WHI σε περίπου 1600 εμμηνόπαυσιακές γυναίκες, οι επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας σε παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (λιπίδια, E-Σελεκτίνη, μεταλλοπρωτεΐνη-9, ομοκυστεΐνη, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, ινωδογόνο, α-ναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1) αλλά και την επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων δεν σχετίζονταν με το γονότυπο των πολυμορφισμών *PvuII T/C* και *XbaI A/G* του οιστρογονικού υποδοχέα α [642].

Ένας ακόμη συχνά μελετώμενος πολυμορφισμός του γονιδίου του οιστρογονικού υποδοχέα α είναι η ύπαρξη διαφορετικού αριθμού επαναλήψεων της ακολουθίας *TA* που βρίσκεται στη ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου. Σε γυναίκες με οικογενή υπερχοληστερολαιμία η παρουσία αυξημένου αριθμού επαναλήψεων της ακολουθίας *TA* σχετίζονταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου [631]. Ο αυξημένος αριθμός επαναλήψεων της αλληλουχίας *TA* σχετίζεται με αυξημένη βαρύτητα αγγειογραφικής στεφανιαίας νόσου σε σχετικά νέους ασθενείς (< 55 ετών) [647] καθώς και με τον αριθμό των στενωτικών αγγείων και τη βαρύτητα στένωσης των στεφανιαίων αγγείων σε νεκροτομική μελέτη αντρών που υπέστησαν αιφνίδιο θάνατο [648]. Επιπλέον, υγιείς εμμηνόπαυσιακές γυναίκες με αυξημένο αριθμό επαναλήψεων της *TA* ακολουθίας παρουσιάζουν μειωμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη ενεργοποίηση του ινωδολυτικού μηχανισμού [649]. Ωστόσο, σε μια συγκριτική μελέτη ασθενών (πρώιμη εμφάνιση εμφράγματος μυοκαρδίου) - μαρτύρων (cross-sectional study) ο πολυμορφισμός επαναλήψεων της ακολουθίας *TA* δεν σχετίζονταν ούτε με την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου ούτε με τα επίπεδα των λιπιδίων [650].

6.3 Γενετικοί πολυμορφισμοί οιστρογονικού υποδοχέα β

Η σημασία των πολυμορφισμών του γονιδίου του οιστρογονικού υποδοχέα β στο καρδιαγγειακό σύστημα έχει μελετηθεί σε μικρότερο βαθμό. Ένας από τους πιο συχνά μελετημένους πολυμορφισμούς του οιστρογονικού υποδοχέα β σε σχέση με το καρδιαγγειακό σύστημα είναι ο πολυμορφισμός *AluI* 1730 A>G (ή rs4986938), ο οποίος ανιχνεύεται στο εξόνιο (exon) 8 του γονιδίου και δεν φαίνεται να προκαλεί κάποια μεταβολή στην αλληλουχία των αμινοξέων της πρωτεΐνης του υποδοχέα [651].

Η παρουσία του γονότυπου *AluI* GG σε μικτό πληθυσμό αντρών και γυναικών σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων, απολιποπρωτεΐνης Β και δείκτη μάζας σώματος και μειωμένη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, ενώ αποδείχτηκε και ανεξάρτητος παράγοντας εμφάνισης πρώιμου εμφράγματος μυοκαρδίου [651]. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η παρουσία του γονότυπου *AluI* GG σχετιζόταν με μεγαλύτερη μείωση της ολικής χοληστερόλης μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σύγκριση με τους άλλους γονότυπους του πολυμορφισμού [646]. Ωστόσο, η συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με τα επίπεδα διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου δεν επαναλήφθηκε σε άλλες μεγαλύτερες μελέτες [652, 653]. Σε υποανάλυση της μελέτης WHI, ο πολυμορφισμός *AluI* 1730 A/G δεν σχετιζόταν ούτε με τα επίπεδα κλασικών και νεότερων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και την επίπτωση καρδιαγγειακών νοσημάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ούτε με την επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε παράγοντες κινδύνου ή την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων [642]. Διάφοροι άλλοι πολυμορφισμοί του οιστρογονικού υποδοχέα β έχουν επίσης περιστασιακά συσχετιστεί με τα επίπεδα διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και την επίπτωση καρδιαγγειακών νοσημάτων [652-654].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο

Σκοπός της μελέτης

7.1 Σκοπός της μελέτης

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση και της ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης με οιστρογόνα στην εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου των αγγείων καθώς και ο ρόλος των γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων στον καθορισμό των επιδράσεων αυτών σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Το πρώτο μέρος της μελέτης αφορούσε την εκτίμηση του ρόλου της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στην εμφάνιση και εξέλιξη της υποκλινικής αθηρωμάτωσης μέσω της σύγκρισης νέων υγιών γυναικών πρόσφατης εμμηνόπαυσης και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών ίδιας ηλικίας. Οι δείκτες υποκλινικής αθηρωμάτωσης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας (ενδοθηλιακή λειτουργία), το πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (υποκλινική αθηρωμάτωση καρωτίδων) καθώς και τα επίπεδα διαφόρων προ-φλεγμονωδών μορίων τα οποία είναι γνωστό ότι συμμετέχουν στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και έχουν σημαντικό ρόλο στην καρδιαγγειακή πρόγνωση. Η επιλογή προεμμηνοπαυσιακών γυναικών ίδιας ηλικίας ως ομάδας ελέγχου επέτρεπε τον καθορισμό των αληθών επιδράσεων της εμμηνόπαυσης ανεξάρτητα από την ηλικία κάτι που δεν ήταν ξεκάθαρο μέχρι στιγμής στην υπάρχουσα βιβλιογραφία. Η συμμετοχή υγιών νέων εμμηνοπαυσιακών γυναικών κοντά στην τελευταία έμμηνο ρύση θεωρήσαμε ότι ήταν κρίσιμη για την εκτίμηση της άμεσης χρονικά επίδρασης της απώλειας των ενδογενών οιστρογόνων στην εξέλιξη της υποκλινικής αθηρωμάτωσης. Παράλληλα αναζητήθηκαν παράγοντες οι οποίοι σχετίζονταν με τα επίπεδα των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες προκειμένου να διαπιστωθεί αν και ποια από τα χαρακτηριστικά της εμμηνόπαυσης είναι σημαντικά για τον καθορισμό του αθηρωματικού κινδύνου σε αυτές τις γυναίκες.

Το δεύτερο μέρος της μελέτης περιελάμβανε τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες παρουσίαζαν κλινικά σημαντικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα και στις οποίες μελετήθηκαν οι μεταβολές που επέφερε η χορήγηση των οιστρογόνων σε παλαιότερους και νεότερους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που παρουσίαζαν εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα αλλά δεν δέχτηκαν να λάβουν ορμονική θεραπεία υποβλήθηκαν σε επανέλεγχο στους 3 μήνες (δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής) και αποτέλεσαν μια ομάδα εσωτερικού ελέγχου για τη διερεύνηση των επιδράσεων της ορμονικής θεραπείας ανεξάρτητα από την πρόοδο της ηλικίας και της εμμηνόπαυσης. Η ομάδα των γυναικών πρόσφατης εμμηνόπαυσης με εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα αποτελεί και την βασική ομάδα γυναικών που λαμβάνουν ορμονική θεραπεία βάσει των εγκεκριμένων ενδείξεων στην πραγματικότητα. Αντίστοιχα δόθηκε και ένα σχήμα ορμονικής θεραπείας (διαδερμική χορήγηση οιστρογόνων με κυκλική χορήγηση προγεστερόνης από το στόμα) το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως προκειμένου να διαπιστωθούν ακριβώς τα οφέλη και οι όποιες αρνητικές επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας σε δείκτες υποκλινικής αθηρωμάτωσης σε συνθήκες όσο το δυνατόν πιο κοντινές στην καθημερινή κλινική πράξη. Επιπλέον ένας από τους επιμέρους σκοπούς της μελέτης ήταν και η διερεύνηση των παραμέτρων που καθορίζουν ως ένα βαθμό τις επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας στα αγγεία, δηλαδή να δοθεί μια απάντηση αν οι όποιες επωφελείς δράσεις της ορμονικής θεραπείας στην αγγειακή λειτουργία και φλεγμονή εξαρτώνται από πιθανές μεταβολές που επέφερε η ίδια η θεραπεία σε κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου ή ήταν αποτέλεσμα των άμεσων δράσεων των ορμονών στα αγγεία.

Τέλος, δεδομένης της σημασίας των οιστρογονικών υποδοχέων στη μεσολάβηση των καρδιαγγειακών δράσεων των οιστρογόνων, θελήσαμε να εξακριβώσουμε αν οι γενετικοί πολυμορφισμοί των κλασικών οιστρογονικών υποδοχέων α και β είχαν κάποιο ρόλο στον καθορισμό των επιδράσεων της ορμονικής θεραπείας στους μελετώμενους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής αλλά και αν υπήρχε κάποια σχέση των πολυμορφισμών αυτών με τους δείκτες υποκλινικής αθηρωμάτωσης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ανεξάρτητα από τη λήψη ορμονικής θεραπείας. Οι πολυμορφισμοί οι οποίοι μελετήθηκαν ήταν αυτοί που έδειξαν κάποια σχέση με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε προηγούμενες μελέτες (πολυμορφισμοί *PvuII* 454-397 $T>C$ και *XbaI* 454-351 $A>G$ του οιστρογονικού υποδοχέα α και *AluI* 1730 $A>G$ του οιστρογονικού υποδοχέα β).

ΕΙΔΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο

Υλικό και Μέθοδοι

8.1 Πληθυσμός μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης χωρίς κάποιο σοβαρό πρόβλημα υγείας και χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακών παθήσεων, χαρακτηριστικά που αφορούν την πλειονότητα των γυναικών που εισέρχονται στην εμμηνόπαυση κοντά στην ηλικία των 50 ετών περίπου. Στις γυναίκες αυτές έγινε διερεύνηση λειτουργικών και δομικών δεικτών υποκλινικής αθηροσκλήρωσης των αγγείων με τη βοήθεια υπερήχων καθώς και βιοχημικός προσδιορισμός παλαιών και νεότερων δεικτών υποκλινικής αγγειακής φλεγμονής που συμμετέχουν στα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης, πριν και μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας. Αντίστοιχα ο ίδιος έλεγχος έγινε και σε μια μικρή ομάδα υγιών γυναικών ίδιας ηλικίας με τις εμμηνόπαυσιακές, οι οποίες όμως διατηρούσαν τον φυσιολογικό τους κύκλο, και αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου.

8.1.1 Γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης (N=120 άτομα)

Οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν τελικά στη μελέτη έπρεπε να πληρούν τα κάτωθι κριτήρια :

- Ηλικία 42-55 ετών,
- Χρόνος από την τελευταία έμμηνου ρύση ≥ 6 μήνες και ≤ 36 μήνες (πρόσφατη εμμηνόπαυση),
- Καλή γενική κατάσταση υγείας και
- Επίπεδα θυλακιοτρόπου ορμόνης ορού ≥ 35 mIU/ml και οιστραδιόλης ορού ≤ 25 pg/ml καταγεγραμμένα τουλάχιστον σε δυο διαφορετικές μετρήσεις.

Ο συγκεκριμένος πληθυσμός εμμηνόπαυσιακών γυναικών θεωρήθηκε ότι ήταν ο πλέον κατάλληλος για τη διεκρίνιση των επιδράσεων της εμμηνόπαυσης στην εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου των αγγείων ανεξάρτητα από την καθοριστική επιρροή της ηλικίας και άλλων παραδοσιακών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου οι οποίοι αποκλείονταν από το ιστορικό των γυναικών (Κριτήρια αποκλεισμού παρακάτω). Επιπλέον σε αυτή την ομάδα εμμηνόπαυσιακών γυναικών αναμένονταν και η υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης των εμμηνόπαυσιακών συμπτωμάτων και επομένως αυτές οι γυναίκες θα μπορούσαν να λάβουν ορμονική θεραπεία βάσει εγκεκριμένων κλινικών ενδείξεων όπως γίνεται στην καθημερινή κλινική πράξη. Τέλος, υποστηρίχτηκε ότι σε αυτή την ομάδα γυναικών θα ήταν πιο εμφανείς οι όποιες αναμενόμενες επιδράσεις των πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων στο φαινότυπο της αγγειακής λειτουργίας, καθώς η ύπαρξη έστω και ενδεχομένως ασθενούς συσχέτισης μεταξύ των πολυμορφισμών αυτών και της αγγειακής λειτουργίας θα ήταν πιο πιθανό να χαθεί σε πληθυσμούς μεγαλύτερης ηλικίας με αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου ή ακόμη και εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο.

Η διαλογή των εμμηνόπαυσιακών γυναικών οι οποίες θα συμμετείχαν στη μελέτη έγινε στα εξωτερικά ιατρεία εμμηνόπαυσης της Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Οι γυναίκες που επισκέπτονταν το ιατρείο εμμηνόπαυσης αναζητούσαν συνήθως ιατρική βοήθεια για τον έλεγχο διαταραχών της εμμήνου ρύσεως, την ανακούφιση των εμμηνόπαυσιακών συμπτωμάτων και τον έλεγχο της οστεοπόρωσης. Κατά το χρονικό διάστημα διενέργειας της μελέτης Δεκέμβριος 2005 έως Ιούλιος 2007 εξετάστηκαν περίπου 600-700 εμμηνόπαυσιακές γυναίκες. Από αυτόν τον πληθυσμό μόνο 120 γυναίκες πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη και υπεβλήθησαν στον περαιτέρω έλεγχο των αγγείων που επέβαλλε το πρωτόκολλο της παρούσας μελέτης.

Όλες οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που πληρούσαν τα κριτήρια συμμετοχής στη μελέτη υπεβλήθησαν στην καθιερωμένη κλινική γυναικολογική εξέταση, συμπεριλαμβανομένου του διακολπικού υπερήχου και της δοκιμασίας Παπανικολάου. Με βάση τα αποτελέσματα της γυναικολογικής εξέτασης οι γυναίκες δεν έπρεπε να παρουσιάζουν καμιά ένδειξη κακοήθειας του ενδομητρίου, καμιά ένδειξη άλλης ενδομητρικής παθολογίας (φυσιολογικό πάχος ενδομητρίου <5 mm ή αν το πάχος ενδομητρίου ήταν ≥ 5 mm δεν έπρεπε να υπάρχουν ενδείξεις ενδομητρικής υπερπλασίας ή κακοήθειας σε βιοψία ενδομητρίου) και καμιά ένδειξη παθολογίας των ωοθηκών. Επίσης όλες οι γυναίκες υποβάλλονταν στον καθιερωμένο κλινικό έλεγχο μαστού και τη διενέργεια απεικονιστικού ελέγχου μαστού

(μαστογραφίας και υπέρηχος μαστού αν χρειαστεί) ανάλογα με τις κλινικές ενδείξεις και τις κατευθυντήριες οδηγίες. Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη παρουσίαζαν φυσιολογικό απεικονιστικό έλεγχο μαστού κατά την πρώτη επίσκεψη στο ιατρείο. Η παρουσία και η ένταση των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων καταγράφονταν σε όλες τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες όπως αναφέρεται αναλυτικά πιο κάτω, όπως επίσης και το ιστορικό λήψης ορμονικής θεραπείας στο παρελθόν (διάρκεια χρήσης, χρόνος ελεύθερος από την τελευταία χρήση και σκεύασμα).

8.1.2 Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24 άτομα) – Ομάδα ελέγχου

Η ομάδα ελέγχου περιελάμβανε γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο οι οποίες πληρούσαν τα παρακάτω κριτήρια συμμετοχής:

- Ηλικία 42–55 ετών,
- Διατήρηση φυσιολογικού κύκλου (κύκλος εμμήνου ρύσεως μεταξύ 21 και 35 ημερών),
- Καλή γενική κατάσταση υγείας

Η συμμετοχή στην ομάδα ελέγχου ήταν καθαρά εθελοντική. Η ομάδα ελέγχου αποτελούνταν κυρίως από γυναίκες που ανήκουν στο προσωπικό του Πανεπιστημίου και του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων είτε από άτομα του φιλικού και συγγενικού περιβάλλοντος της ερευνητικής ομάδας τα οποία διέμεναν στην ευρύτερη περιοχή των Ιωαννίνων. Η προσέλκυση εθελοντών έγινε επίσης και μέσω προγραμματισμένης ενημέρωσης στο κοινό της πόλης των Ιωαννίνων περί εμμηνόπαυσης, εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων και ορμονικής θεραπείας καθώς και της διενέργειας της παρούσας μελέτης στο χώρο του Πανεπιστημίου και του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

8.1.3 Κριτήρια αποκλεισμού

Οι εμμηνοπαυσιακές και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη εξαιρούνταν από τη συμμετοχή σε αυτή εφόσον παρουσίαζαν έστω και ένα από τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

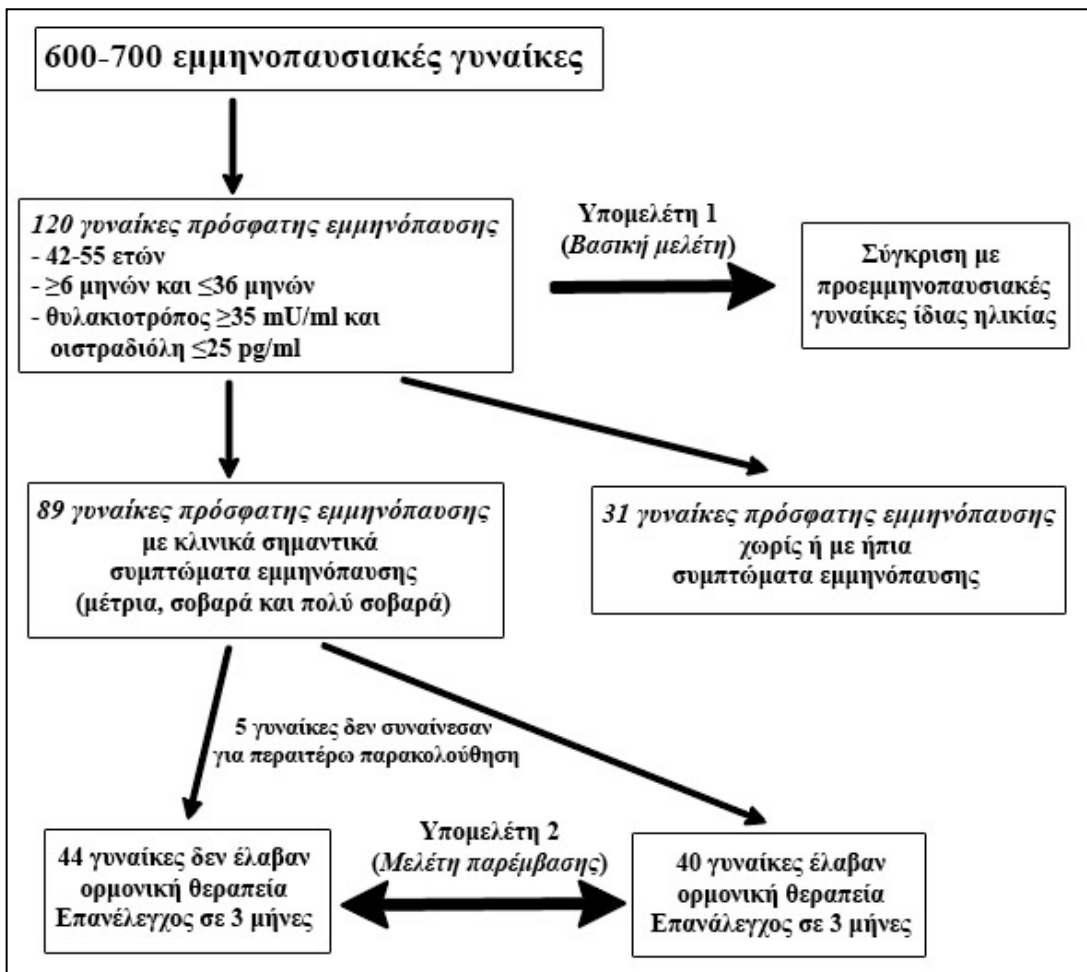
- Ιστορικό θρομβοεμβολικής νόσου,
- Κλινικά συμπτώματα/σημεία ή γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων (στεφανιαία νόσος, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, περιφερική αρτηριακή νόσος),
- Υπέρταση που ορίζονταν ως συστολική αρτηριακή πίεση >155 mmHg και /ή διαστολική αρτηριακή πίεση >95 mmHg κατά την εξέταση ή λήψη αντιυπερτασικής αγωγής,
- Ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη ή γλυκόζη νηστείας \geq 126 mg/dl κατά την εξέταση ή λήψη αντι-διαβητικών φαρμάκων,
- Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη >190 mg/dl ή λήψη υποχοληστερολαιμικής αγωγής,
- Τριγλυκερίδια ορού >500 mg/dl,
- Δείκτης μάζας σώματος <19 ή >35 kg/m²,
- Χρήση θεραπείας που μπορεί να επηρεάζει την αγγειακή λειτουργία τους τελευταίους 6 μήνες (ορμονική θεραπεία, συμπληρώματα με φυτοοιστρογόνα, βιταμίνες, αντιοξειδωτικά και φάρμακα καρδιαγγειακού συστήματος),
- Υπέρμετρη χρήση αλκοόλ (>2 Units/day),
- Ιστορικό χρόνιων νοσημάτων, όπως κακοήθειες, νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική κίρρωση και ενδοκρινολογικές παθήσεις και
- Λοίμωξη από τον ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας.

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου καταγράφονταν σε όλες τις γυναίκες και ορίστηκε ως εμφάνιση στεφανιαίας νόσου σε άντρα συγγενή πρώτου βαθμού ηλικίας <55 ετών ή σε γυναίκα συγγενή πρώτου βαθμού ηλικίας <65 ετών. Το ιστορικό καπνίσματος των συμμετεχόντων καταγράφονταν ως νυν, πρώην και ποτέ καπνίστρια χωρίς να αποτελεί κριτήριο αποκλεισμού από τη μελέτη. Τελικώς, οι ομάδες των εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών ήταν σταθμισμένες ως προς το ποσοστό των καπνιζόντων. Το επίπεδο φυσικής άσκησης των γυναικών καταγράφονταν επίσης ως εξής: 1) καθόλου άσκηση ή περιστασιακή άσκηση λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα, 2) βόδιση με γρήγορο ρυθμό για τουλάχιστον 30 λεπτά την ημέρα και όχι πάνω από 5 ημέρες την εβδομάδα και 3) καθημερινή άσκηση, είτε ως βόδιση με γρήγορο ρυθμό ή πιο εντατική άσκηση.

8.2 Σχεδιασμός μελέτης

Ο σχεδιασμός της μελέτης (Εικόνα 8.1) περιελάμβανε εξαρχής δυο επιμέρους υπομελέτες:

- Η πρώτη υπομελέτη αφορούσε τη σύγκριση των εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών ως προς τους μελετώμενους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής και την αναζήτηση παραγόντων οι οποίοι σχετίζονται με τους δείκτες αυτούς στην ομάδα των εμμηνοπαυσιακών γυναικών.
- Η δεύτερη υπομελέτη αφορούσε τις επιδράσεις της 3μηνης χορήγησης ορμονικής θεραπείας στους μελετώμενους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που παρουσίαζαν κλινικά σημαντικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα.



Εικόνα 8.1. Διάγραμμα ροής της μελέτης

Τα κύρια καταληκτικά σημεία της μελέτης ήταν οι διαφορές στις παραμέτρους αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής τόσο μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών (*υπομελέτη 1*), όσο και μετά την επίδραση της ορμονικής θεραπείας στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα (*υπομελέτη 2*). Οι δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής που εκτιμήθηκαν ήταν: η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη και μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία, το πάχος έσω-μέσου χιτώνα των κοινών καρωτίδων, η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, η P-Σελεκτίνη και το μόριο sCD40L. Εκτός των κυρίων καταληκτικών σημείων μελετήθηκαν και άλλες μεταβολικές (λιπίδια και γλυκόζη ορού) και ορμονικές (θυλακιοτρόπος ορμόνη και οιστραδιόλη ορού) παράμετροι σε προεμμηνοπαυσιακές και εμμηνοπαυσιακές (πριν και μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας) γυναίκες. Τέλος, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση γνωστών πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων α και β για τη διερεύνηση συσχετίσεων των πολυμορφισμών αυτών με αγγειακές, ορμονικές και μεταβολικές παραμέτρους στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες καθώς και τις μεταβολές που επέφερε η χορήγηση ορμονικής θεραπείας στις γυναίκες αυτές.

Η μελέτη σχεδιάστηκε σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διατάξεις της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Μιχαηλίδειου Καρδιολογικού Κέντρου. Όλες οι γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη παρείχαν γραπτή συναίνεση για τη συμμετοχή τους.

8.2.1 Πρώτη Υπομελέτη

Σύγκριση δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών

Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που πληρούσαν τα κριτήρια συμμετοχής στη μελέτη εξετάζονταν αρχικά στα εξωτερικά ιατρεία εμμηνόπαυσης, όπου γίνονταν η γυναικολογική εξέταση συμπεριλαμβανομένου του διακολπικού υπερήχου και της δοκιμασίας Παπανικολάου (εφόσον δεν υπήρχε προηγούμενη πρόσφατη εξέταση). Ακολούθως λαμβάνονταν πλήρες γυναικολογικό (χρόνος από τελευταία έμμηνο ρύση, ιστορικό χρήσης ορμονικής θεραπείας, ιστορικό παθολογίας από μαστό ή/και ενδομήτριο κ.α.) και καρδιαγγειακό (οι-

κογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, ιστορικό κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, καπνίσματος, φυσικής άσκησης και φαρμακευτικής αγωγής καρδιαγγειακών νοσημάτων) ιστορικό. Η αιμοληψία για τον καθορισμό των μελετώμενων μεταβολικών (γλυκόζη νηστείας και λιπίδια ορού) και ορμονικών (θυλακιοτρόπος ορμόνη και οιστραδιόλη ορού) παραμέτρων γίνονταν άμεσα εφόσον η γυναίκα βρισκόταν σε νηστεία από το προηγούμενο βράδυ, ενώ σε αντίθετη περίπτωση πραγματοποιούνταν την επόμενη ημέρα μετά από ολονύκτια νηστεία. Ένα μέρος του δείγματος αίματος οδηγούνταν προς φυγοκέντρηση και απομόνωση ορού, ο οποίος διατηρούνταν ξεχωριστά σε μικρά σωληνάκια των 0,5 ml (ependorfs) σε καταψύκτη στους -80°C προκειμένου να γίνει σε δεύτερο χρόνο η ανάλυση για τον καθορισμό των επιπέδων των δεικτών αγγειακής φλεγμονής (υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, P-Σελεκτίνη, μόριο sCD40L). Τέλος, ποσότητα αίματος ίση περίπου με 5 ml διατηρούνταν σε ξεχωριστά σωληνάκια (ειδικά σωληνάκια για την αιματολογική εξέταση γενικής αίματος) στους -80°C για τον καθορισμό των μελετώμενων πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων. Ακολούθως, οι γυναίκες υποβάλλονταν στην υπερηχογραφική εκτίμηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα των κοινών καρωτίδων και της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης και μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας. Ακριβώς πριν τις εξετάσεις των υπερήχων λαμβάνονταν τιμές αρτηριακής πίεσης ηρεμίας (τρεις διαδοχικές μετρήσεις και υπολογισμός της μέσης τιμής των μετρήσεων) και μετρούνταν το ύψος και βάρος (πάντα στην ίδια ζυγαριά ακριβείας) των γυναικών για τον καθορισμό του δείκτη μάζας σώματος με βάση τον μαθηματικό τύπο: Δείκτης Μάζας Σώματος = Βάρος, kg / (Υψος, m)².

Στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ακολουθούνταν η ίδια σειρά στη λήψη του ιστορικού, την κλινική εξέταση, την αιμοληψία και τη διενέργεια των υπερηχογραφικών μελετών των αγγείων όπως και στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι τόσο η λήψη των δειγμάτων αίματος όσο και ο υπερηχογραφικός έλεγχος των αγγείων διενεργούνταν πάντα στην πρόιμη θυλακική φάση του κύκλου (3-5^η ημέρα του κύκλου) σε όλες τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εξαιτίας της διακύμανσης των μετρήσεων ανάλογα με τη φάση του κύκλου. Στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν διατηρούνταν δείγμα αίματος για την ανάλυση γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων.

Σκοπός ήταν η εκτίμηση των διαφορών σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας προεμμη-

νοπαυσιακές γυναίκες για τον προσδιορισμό τελικά των επιδράσεων της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στην εξέλιξη των πρώιμων σταδίων της αθηρωματικής νόσου. Περαιτέρω έγινε αναζήτηση παραγόντων οι οποίοι σχετίζονται με τα επίπεδα των δεικτών αυτών καθώς και η διερεύνηση πιθανών επιδράσεων των γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων στους μελετώμενους δείκτες στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες.

8.2.2 Δεύτερη υπομελέτη (Μελέτη παρέμβασης)

Επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης

Στη μελέτη παρέμβασης συμμετείχαν εμμηνόπαυσιακές γυναίκες οι οποίες παρουσίαζαν αγγειοκινητικά εμμηνόπαυσιακά συμπτώματα (εξάψεις-εφιδρώσεις) τουλάχιστον μέτριας βαρύτητας (n=89) και στις οποίες βάσει ενδείξεων συνεστήθη η λήψη ορμονικής θεραπείας για τον έλεγχο αυτών των συμπτωμάτων. Ο σχεδιασμός της μελέτης για αυτές τις γυναίκες περιελάμβανε επανεξέταση στους 3 μήνες κάτι που αποδέχθηκαν τελικά μόνο οι 84 από τις 89 γυναίκες. Από το σύνολο των 84 γυναικών που συμμετείχαν στην υπομελέτη αυτή οι 40 συναίνεσαν στη λήψη ορμονικής θεραπείας (ομάδα Α). Οι υπόλοιπες 44 εμμηνόπαυσιακές γυναίκες δεν έλαβαν κανενός είδους ορμονική θεραπεία συμπεριλαμβανομένου και τοπικών εφαρμογών των ορμονών π.χ. ενδοκολπικά, αλλά επανήλθαν για επανεξέταση μετά από 3 μήνες (ομάδα ελέγχου – ομάδα Β). Το σχήμα ορμονικής θεραπείας που συνεστήθη ήταν η διαδερμική χορήγηση 17β-οιστραδιόλης 50 mcg/ημέρα με την προσθήκη 200mg προγεστερόνης από το στόμα για τις τελευταίες 12 ημέρες ενός 28ήμερου κύκλου. Σε όλες τις γυναίκες εδόθησαν συμβουλές για διατήρηση σταθερών συνθηκών διαίτας και άσκησης κατά τη διάρκεια των 3 μηνών παρακολούθησης. Στο τέλος της 3μηνιαίας παρακολούθησης έγινε επανεκτίμηση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής καθώς και των λοιπών κλινικών, μεταβολικών και ορμονικών παραμέτρων σε όλες τις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν (n=84), όπως περιγράφηκε παραπάνω. Οι γυναίκες επανέρχονταν στους 3 μήνες κατά τις πρωινές ώρες μετά από προκαθορισμένη νηστεία το προηγούμενο βράδυ και γίνονταν αιμοληψία και ανάλυση του δείγματος, όπως περιγράφεται παραπάνω στη βασική μελέτη. Η ημερομηνία προσέλευσης ορίζονταν έτσι ώστε να συμπίπτει χρονικά με την τοποθέτηση του 2^{ου} διαδερμικού επιθέματος

οιστραδιόλης του τρέχοντος μήνα έτσι ώστε η εξέταση του ενδοθηλίου στη βραχιόνια αρτηρία να γίνεται πάντα στην οιστρογονική φάση του τεχνητού φαρμακευτικού κύκλου στις γυναίκες. Κατά τον επανέλεγχο δεν μετρήθηκε το πάχος έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων καθώς το χρονικό διάστημα της παρέμβασης ήταν μικρό για να καταγραφεί κάποια μεταβολή.

Τα διαδερμικά επιθέματα οιστρογονικής θεραπείας τοποθετούνταν σχεδόν πάντα στην κοιλιακή χώρα, διατηρούνταν για 3 ημέρες (περίπου 2 επιθέματα ανά εβδομάδα) και το επόμενο επίθεμα τοποθετούνταν σε διαφορετική θέση από το προηγούμενο για την αποφυγή ερεθισμού του υποκείμενου δέρματος. Η ορθή λήψη θεραπείας ελέγχθηκε με την καταμέτρηση των διαδερμικών επιθεμάτων ορμονικής θεραπείας στο τέλος της 3μηνια παρακολούθησης. Στο τέλος του 3μήνου έγινε επίσης εκ νέου φυσική εξέταση των γυναικών με ιδιαίτερη προσοχή στην αναζήτηση νεοεμφανιζόμενης ευαισθησίας μαστών και κοιλιακής αιμόρροιας. Η διαδερμική οδός χορήγησης ορμονικής θεραπείας επιλέχθηκε γιατί αφενός είναι αποτελεσματική στον έλεγχο των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων αλλά και θεωρήθηκε πιο ασφαλής δεδομένου της μειωμένης επίπτωσης θρομβοεμβολικών επεισοδίων [604, 655] σε σύγκριση με την από του στόματος χορήγηση.

Βασικός σκοπός της μελέτης παρέμβασης ήταν η διερεύνηση των επιδράσεων της βραχυχρόνιας (3 μήνες) λήψης ορμονικής θεραπείας στην ενδοθηλιο-εξαρτώμενη και μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας καθώς και στους δείκτες αγγειακής φλεγμονής σε υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης. Αναζητήθηκαν επίσης πιθανοί προγνωστικοί παράγοντες των μεταβολών που επέφερε η ορμονική θεραπεία όπως και η πιθανή επίδραση των μελετώμενων πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων στη δράση της ορμονικής θεραπείας.

8.3 Υπερηχογραφική μελέτη αγγείων

Ο σχεδιασμός της μελέτης περιελάμβανε την εκτίμηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων και της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης και μη-ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας με τη χρήση υπερήχων υψηλής ευκρίνειας. Το σύνολο των προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών υποβάλλονταν στην υπερηχογραφική μελέτη των αγγείων κατά την αρχική επίσκεψη, ενώ οι εμμηνοπαυσιακές

γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη παρέμβασης επαναλάμβαναν τη μέτρηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης και μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας κατά τον επανέλεγχο σε 3 μήνες. Η υπερηχογραφική μελέτη των αγγείων έγινε στο Μιχαηλίδειο Καρδιολογικό Κέντρο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων όπως περιγράφεται αμέσως παρακάτω. Όλες οι μελέτες έγιναν από τον ίδιο χειριστή, ο οποίος δεν γνώριζε σε ποια ομάδα ανήκαν οι γυναίκες αρχικά ούτε και το αν λάμβαναν θεραπεία ή όχι στον επανέλεγχο. Οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν με ένα σύστημα υπερήχων Echo-Doppler (Ultrasound ATL, HDI 5000, Bophell, WA, USA) και τη χρήση ενός 'μορφοτροπέα' (transducer) ειδικού για τη μελέτη αγγείων με συχνότητες υπερήχων 5-12 MHz (**Εικόνα 8.2**).



Εικόνα 8.2. Σύστημα υπερήχων με το οποίο διενεργήθηκαν οι εξετάσεις των αγγείων

Τα εξεταζόμενα άτομα εισέρχονταν σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο (**Εικόνα 8.3**) για την εκτέλεση των εξετάσεων των υπερήχων με ελεγχόμενη σταθερή θερμοκρασία 22-24°C. Μετά την αρχική εξοικείωση με το χώρο και τη λήψη των απαραίτητων πληροφοριών για το ιστορικό της ασθενούς, τα υπό εξέταση άτομα παραμένουν σε ηρεμία σε ύπτια θέση στην εξεταστική κλίνη για χρονικό διάστημα 10-15 λεπτών πριν την έναρξη των εξετάσεων των αγγείων. Λαμβάνονταν μετρήσεις αρτηριακής πίεσης σε ηρεμία και τοποθετούνταν τρία ηλεκτρόδια για την παράλληλη καταγραφή του ηλεκτροκαρδιογραφήματος επιφανείας. Αρχικά πραγματοποιούνταν η μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων και ακολουθούσε η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας στη βραχιόνια αρτηρία.

8.3.1 Εκτίμηση πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων

Η εκτίμηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων βασίστηκε σε ορισμένο πρωτόκολλο το οποίο έχει περιγραφεί σε δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες προσφάτως [227]. Οι ασθενείς από την ύπτια θέση έφεραν το κεφάλι σε έκταση και ελαφρά στροφή προς αριστερά για τη λήψη εικόνων από τη δεξιά κοινή καρωτίδα και ακολούθως έστρεφαν την κεφαλή προς τα δεξιά για τη λήψη εικόνων από την αριστερή κοινή καρωτίδα. Αρχικά λαμβάνονταν εγκάρσια τομή της κοινής καρωτίδας χαμηλά στον τράχηλο και ακολούθως ο ‘μορφοτροπέας’ υπερήχων περιστρέφονταν ώστε η δέσμη των υπερήχων να έρθει σε παράλληλη θέση με τον αυλό του αγγείου. Ο μορφοτροπέας κινούνταν παράλληλα με την πορεία του αγγείου έως το διχασμό της κοινής καρωτίδας και την εμφάνιση



Εικόνα 8.3. Χώρος διενέργειας υπερηχογραφικής μελέτης αγγείων στο Μιχαηλίδειο Καρδιολογικό Κέντρο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

του καρωτιδικού βολβού. Μετά από μια σύντομη διερεύνηση των αγγείων της έσω και έξω καρωτίδας για την ύπαρξη πλακών και στενώσεων των αγγείων ακολουθούσε η λήψη εικόνων της κοινής καρωτίδας αρτηρίας για την εκτίμηση του πάχους του έσω-μέσου χι-

τώνα του αγγείου. Καταγράφονταν τρεις συνεχόμενες διαδοχικές μετρήσεις των τοιχωμάτων των κοινών καρωτίδων διάρκειας ενός καρδιακού κύκλου σε απόσταση 1-2 εκατοστά εγγύς από το διχασμό των κοινών καρωτίδων. Η απεικόνιση του αγγείου θεωρούνταν ικανοποιητική για τη μελέτη όταν διαφαίνονταν ευκρινώς τα όρια του έσω-μέσου χιτώνα του άπω τοιχώματος του αγγείου, όπου γίνονταν οι μετρήσεις, αλλά και του εγγύς τοιχώματος αφού αυτό σήμαινε ότι η δέσμη των υπερήχων 'έκοβε' κάθετα το αγγείο ως όφειλε.

8.3.2 Εκτίμηση ενδοθηλιακής λειτουργίας στη βραχιόνια αρτηρία

Η εκτίμηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης και μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας βασίστηκε σε μέθοδο η οποία έχει περιγραφεί σε δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες [86].

Η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή εκτιμήθηκε μέσω προσδιορισμού της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία ως συνέπεια της αντιδραστικής υπεραιμίας και της επακόλουθης αύξησης της διατημητικής τάσης της αιματικής ροής μετά από σύσφιξη του αντιβραχίου. Μετά το πέρας της υπερηχογραφικής μελέτης των καρωτίδων, τα εξεταζόμενα άτομα παρέμεναν σε ύπτια θέση και έφεραν το δεξιό άνω άκρο σε απαγωγή περίπου 60° τοποθετημένο σε ειδική κατασκευή στήριξης και ακινητοποίησης του αγκώνα. Όλες οι μετρήσεις γίνονταν στη δεξιά βραχιόνια αρτηρία. Αρχικά απεικονίζονταν η βραχιόνια αρτηρία σε ηρεμία 5-10 εκατοστά πάνω από τον αγκώνα για την εύρεση της κατάλληλης θέσης απεικόνισης ενός όσο το δυνατόν πιο ευθύγραμμου τμήματος της αρτηρίας λίγα εκατοστά πιο πάνω από την κύρτωση της αρτηρίας στον αγκώνα. Ακολούθως, λαμβάνονταν η καταγραφή της επιμήκους τομής του αγγείου για διάρκεια τεσσάρων καρδιακών κύκλων. Η καταγεγραμμένη εικόνα γίνονταν αποδεκτή όταν απεικονίζονταν τα όρια έσω-μέσου χιτώνα και στα δυο τοιχώματα του αγγείου ή όταν θεωρούνταν ότι απεικόνιζε μια διατομή του αγγείου με τη μέγιστη διάμετρο εφόσον δεν μπορούσε να απεικονιστεί ο έσω-μέσος χιτώνας (κάθετη θέση του μορφοτροπέα ως προς το αγγείο). Η τοποθέτηση του δείκτη Doppler στο κέντρο της απεικονιζόμενης αρτηρίας γίνονταν για τη λήψη μετρήσεων παλμικού Doppler της ροής του αγγείου (καρδιακή συχνότητα, ολοκλήρωμα ταχύτητας-χρόνου ροής) οι οποίες και αποθηκεύονταν. Στη συνέχεια με τη βοήθεια περιχειρίδας ενηλίκου συσφίγγονταν το δεξιό αντιβράχιο στη μεσότητα για 4 λεπτά σε σταθερή πίεση 300 mmHg χωρίς να μετακινείται το δεξιό άνω άκρο. Κατά τη διάρκεια της

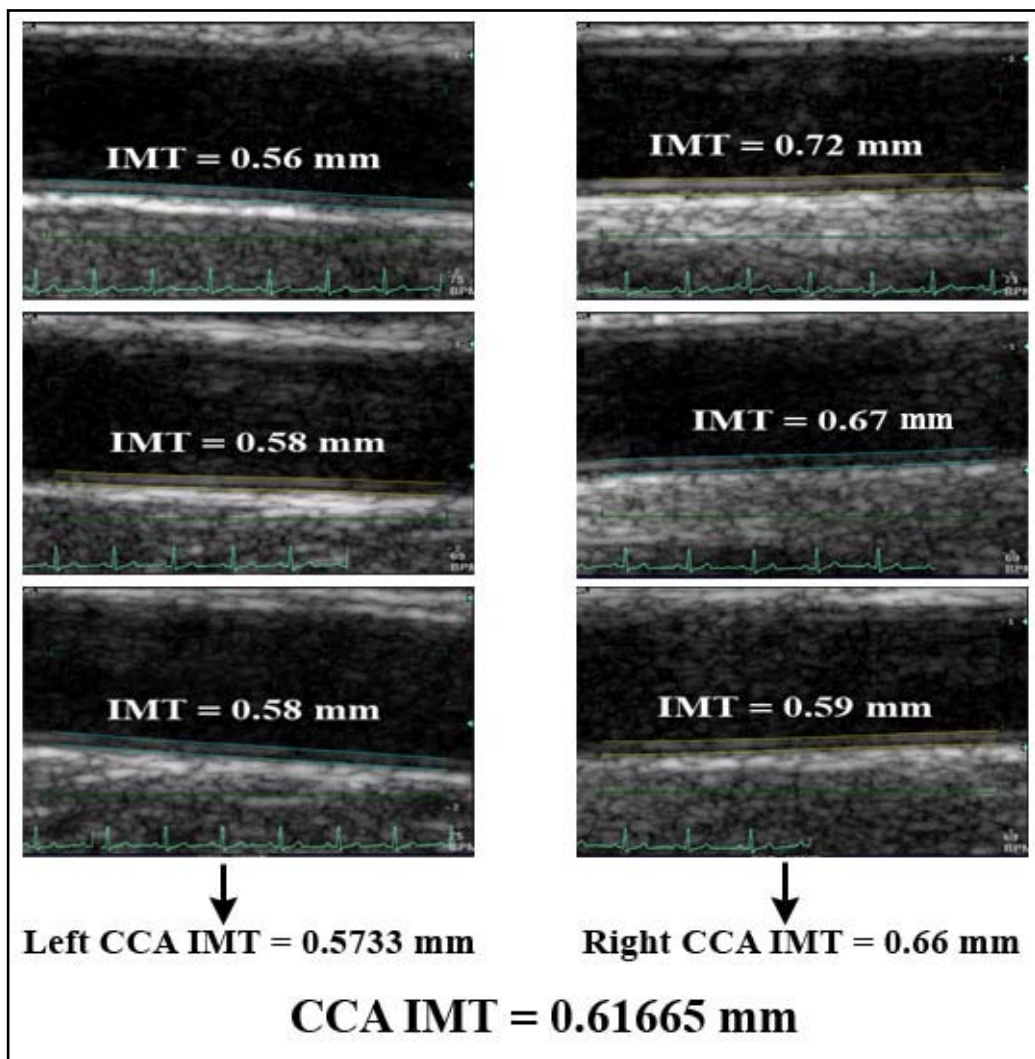
σύσφιξης το υπό εξέταση άτομο παρέμενε σε ηρεμία χωρίς να διαταράσσεται από εξωτερικούς παράγοντες. Μετά την απελευθέρωση του άκρου λαμβάνονταν μετρήσεις ροής του αγγείου στα πρώτα 10-15 δευτερόλεπτα για την καταγραφή της μέγιστης ροής της υπεραϊμικής αντίδρασης. Νέες εικόνες της βραχιόνιας αρτηρίας για τον καθορισμό της διαμέτρου στην ίδια περιοχή όπως και στις μετρήσεις ηρεμίας λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα από το πρώτο έως και το τρίτο λεπτό μετά την απελευθέρωση του άκρου από την περιχειρίδα για τον καθορισμό της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Μετά από 10-15 λεπτά από την απελευθέρωση του άκρου λαμβάνονταν εκ νέου μετρήσεις διαμέτρου και ροής της βραχιόνιας αρτηρίας προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι όλες οι μελετώμενες παράμετροι επέστρεψαν σε τιμές ηρεμίας. Ακολούθως χορηγούνταν υπογλώσσια 400 μg νιτρογλυκερίνης και 4 λεπτά μετά τη χορήγηση νιτροδών λαμβάνονταν εκ νέου μετρήσεις ροής και διαμέτρου για τον καθορισμό της νιτροδο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (μη-ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή).

8.3.3 Μετρήσεις και αποτελέσματα υπερηχογραφικής μελέτης αγγείων

Οι μετρήσεις στη βραχιόνια αρτηρία και τις κοινές καρωτίδες γίνονταν σε δεύτερο χρόνο από άλλον χειριστή, ο οποίος και πάλι δεν γνώριζε το ιστορικό των γυναικών ή την θεραπεία που λάμβαναν. Η ανάλυση γίνονταν με τη χρήση του προγράμματος QLAB (Philips Ultrasound, Bothell, WA, USA) με χειροκίνητο καθορισμό των ορίων του άπω και εγγύς τοιχώματος της βραχιόνιας αρτηρίας για μήκος 1-2 εκατοστών (διάμετρος αγγείου) και αυτόματο καθορισμό των ορίων έσω-μέσου χιτώνα των κοινών καρωτίδων. Οι μετρήσεις γίνονταν πάντα στην τελοδιαστολή, χρονικό σημείο που συμπίπτει με την κορυφή του κύματος R του ηλεκτροκαρδιογραφήματος επιφανείας.

Στις κοινές καρωτίδες οι μετρήσεις γίνονταν πάντα στο άπω τοίχωμα των αγγείων (**Εικόνα 8.4**). Η μέση και μέγιστη τιμή του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κάθε καρωτίδας ορίζονταν από το μέσο όρο και τη μέγιστη τιμή των τριών μετρήσεων σε κάθε αγγείο. Τέλος, η μέση και μέγιστη τιμή του πάχους έσω-μέσου χιτώνα συνολικά καθορίζονταν από τις αντίστοιχες μετρήσεις σε κάθε αγγείο.

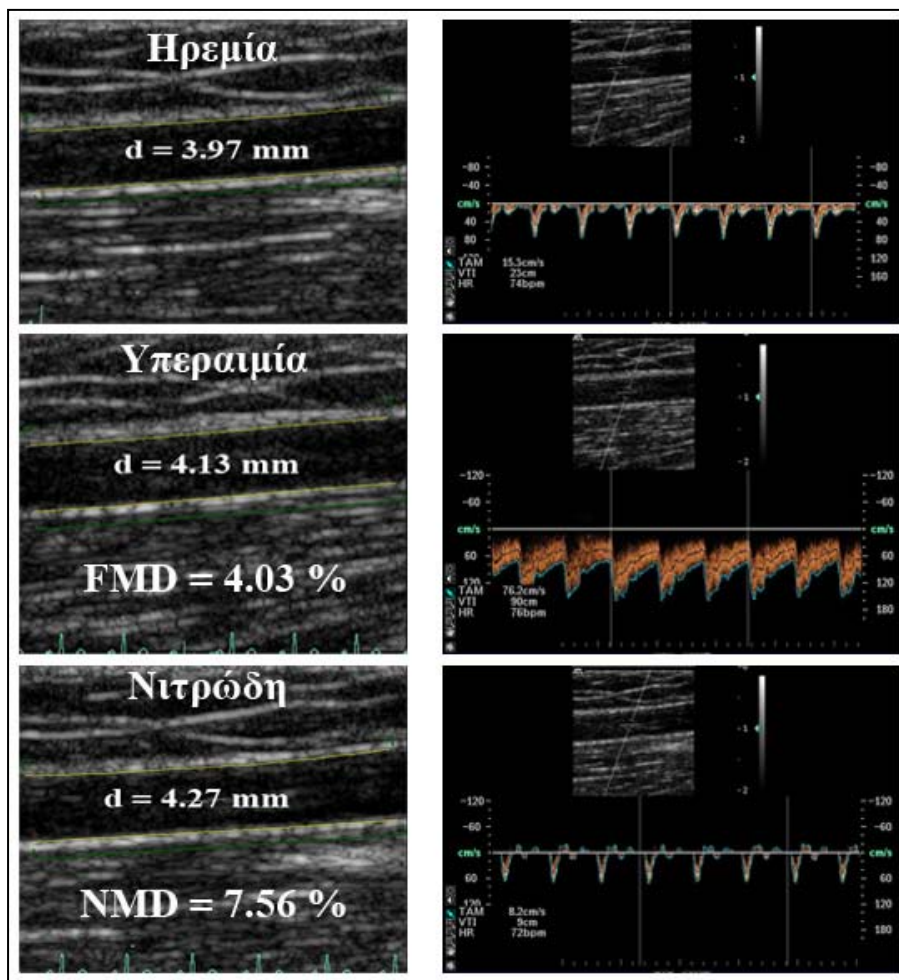
Η μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία καθορίζονταν ως η μέγιστη επί τοις εκατό μεταβολή της διαμέτρου του αγγείου κατά τη διάρκεια των 3 πρώτων λεπτών της υπεραϊμικής αντίδρασης σε σχέση με τη διάμετρο ηρεμίας. Η ροο-



Εικόνα 8.4. Μέτρηση πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (CCA IMT) με τη χρήση αυτοματοποιημένου συστήματος μέτρησης (QLAB)

εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στο πρώτο λεπτό της αντιδραστικής υπεραϊμίας ορίστηκε ως η επί τοις εκατό μεταβολή της διαμέτρου του αγγείου κατά το πρώτο λεπτό της υπεραϊμίας σε σχέση με την ηρεμία. Επιπλέον η επί τοις εκατό μεταβολή (σε σχέση με την ηρεμία) του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου αντιδραστικής υπεραϊμίας στη βραχιόνια αρτηρία χρησιμοποιήθηκε ως ένας ακόμη δείκτης της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Η νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή καθορίστηκε ως η επί τοις εκατό μεταβολή της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών σε σχέση με τις μετρήσεις ηρεμίας. Οι καταγραφές της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας είχαν διάρκεια 4 καρδιακών κύκλων, όπως προαναφέρθηκε, και κάθε φορά υπολογίζονταν ο μέσος όρος των 4 κύκλων. Για τον καθορισμό των ροών της βραχιόνιας αρτηρίας καταγράφονταν το ολοκλήρωμα ταχύτητας-χρόνου και η καρδιακή συχνότητα και ο υπολογισμός της ροής

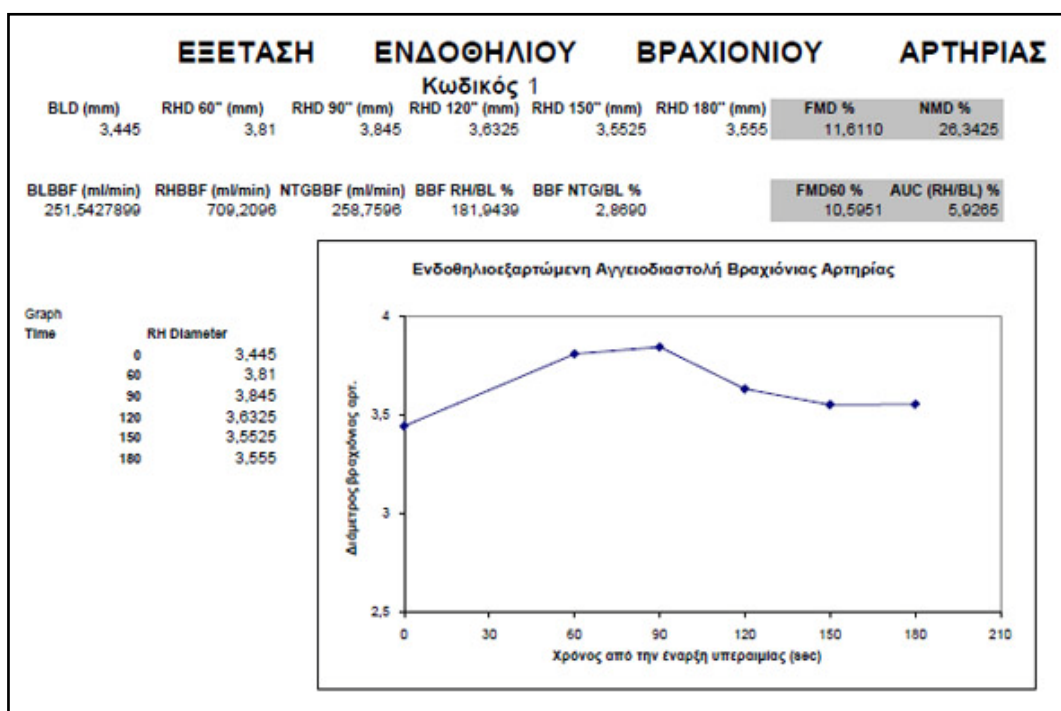
γίνονταν με βάση τον τύπο: Ροή (ml/min) = $\pi \cdot (\text{Διάμετρος}/2)^2 \cdot \text{Ολοκλήρωμα ταχύτητας-χρόνου} \cdot \text{Καρδιακή συχνότητα}$ (Εικόνα 8.5). Οι μεταβολές της ροής που καταγράφονταν κατά την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία χρησιμοποιούνταν ως ένα μέτρο στάθμισης του ερεθίσματος της διαμητρικής τάσης που προκαλούσε την ροοαγγειοδιαστολή και όφειλαν να είναι ίδιες στις διάφορες ομάδες της μελέτης (αγγειοδιαστολή επί ίδιου ερεθίσματος). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της υπερηχογραφικής μελέτης των αγγείων καταγράφονταν σε ειδικό φύλλο αποτελεσμάτων με τη γραφική αναπαράσταση της αντίδρασης της βραχιόνιας αρτηρίας στο υπεραιμικό ερέθισμα (Εικόνα 8.6 – φύλλο αποτελεσμάτων).



Εικόνα 8.5. Εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας στη βραχιόνια αρτηρία μέσω της μέτρησης της ροο-εξαρτώμενης (FMD) και νιτρωδο-εξαρτώμενης (NMD) αγγειοδιαστολής της αρτηρίας. Στη δεξιά πλευρά της εικόνας αποτυπώνονται τα πρότυπα ροής του αγγείου κατά την ηρεμία, τη μέγιστη υπεραιμία και μετά τη χορήγηση νιτρωδών.

8.3.4 Μελέτη επαναληψιμότητας για την υπερηχογραφική μελέτη των αγγείων

Η πραγματοποίηση της μελέτης επαναληψιμότητας για τις μεθόδους υπερηχογραφικού καθορισμού του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων και της λειτουργικότητας ενδοθηλίου στη βραχιόνια αρτηρία έγινε με τη συμμετοχή 10 εθελοντών οι οποίοι υποβλήθηκαν στις παραπάνω εξετάσεις σε δυο διαφορετικές χρονικές στιγμές σε διάστημα 7-10 ημερών μεταξύ των μετρήσεων. Σκοπός ήταν ο προσδιορισμός της μεταβλητότητας/επαναληψιμότητας των μετρήσεων/καταγραφών σε δυο διαφορετικές χρονικές στιγμές από τον ίδιο χειριστή αλλά και η μεταβλητότητα του μη αυτόματου καθορισμού της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας στην ίδια απεικόνιση. Η μεταβλητότητα επαναλαμβανόμενων μετρήσεων της ίδιας καταγραφής της βραχιόνιας αρτηρίας ήταν 0.021 ± 0.038 mm αντίστοιχα. Ο συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation) μεταξύ δυο διαφορετικών καταγραφών από τον ίδιο χειριστή υπολογίζονταν ως το πηλίκο της τυπικής απόκλισης προς τη μέση τιμή των μετρήσεων και ήταν για τη βραχιόνια διάμετρο, την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, τη μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και το πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων 0.7%, 6.9%, 7.3% και 1.5% αντίστοιχα.



Εικόνα 8.6. Φύλλο αποτελεσμάτων υπερηχογραφικής εξέτασης ενδοθηλιακής λειτουργίας βραχιόνιας αρτηρίας

8.4 Ανάλυση γονοτύπων

Η ανάλυση των γονοτύπων έλαβε μέρος στη Μονάδα Γενετικής του τμήματος Γυναικολογικής-Μαιευτικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα δείγματα αίματος που προορίζονταν για τον καθορισμό των πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι τη στιγμή της ανάλυσης. Η εξαγωγή (εκχύλιση) DNA γίνονταν από λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος σύμφωνα με τυποποιημένες μεθόδους εκχύλισης άλατος (salt extraction methods). Μετά την απομόνωση μικροποσοτήτων γενετικού υλικού εφαρμόζονταν η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, *PCR*) για την απομόνωση και πολλαπλασιασμό του γενετικού υλικού που περιείχε τις περιοχές των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων που αφορούσαν τη μελέτη. Σε συνδυασμό με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος πολυμορφισμών μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (restriction fragment length polymorphisms, *RFLPs*) καθώς στα προϊόντα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης εφαρμόστηκαν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες (ένζυμα που 'κόβουν' το γενετικό υλικό σε συγκεκριμένες αλληλουχίες) *PvuII*, *XbaI* και *AluI* σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (New England γBiolabs Inc., Ipswich, MA, USA) για τη διαλογή των πολυμορφισμών rs2234693 (επίσης γνωστός ως *PvuII* 454-397T>C) και rs9340799 (επίσης γνωστός ως *XbaI* 454-351A>G) του οιστρογονικού υποδοχέα α και rs4986938 (επίσης γνωστός ως *AluI* G1730A) του οιστρογονικού υποδοχέα β.

Η ενίσχυση των μικροποσοτήτων γενετικού υλικού έγινε με τη χρήση 1 μονάδας ανασυνδυασμένης πολυμεράσης (*TaqDNA* polymerase) σε ειδικό αναλυτή (DNA thermocycler PTC-100) (Gibco/BRL Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD, USA). Για τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα ζεύγη εκκινητών (primers) για την απομόνωση των αντίστοιχων αλληλουχιών που περιέχουν τις περιοριστικές θέσεις για τα ένζυμα *PvuII* και *XbaI* στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α: εμπρός 5'-CTG CCA CCC TAT CTG TAT CTT TTC CTA TTC TCC-3', αντίστροφα 5'-TCT TTC TCT GCC ACC CTG GCG TCG ATT ATC TGA-3' και για το ένζυμο *AluI* στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β: εμπρός 5'-GAC CTG CTG CTG GAG ATG CT-3', αντίστροφα 5'-AAT GAG GGA CCA CAC AGC A-3'. Το προϊόν της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης για το γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α ήταν ένα τμήμα του ιντρονίου 1 και του εξονίου 2, όπου εντοπίζονταν οι θέσεις δράσης των εν-

ζύμων PvuII και XbaI. Αντίστοιχα για το γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β το προϊόν της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης περιελάμβανε το τελικό (3' – μη μεταγράψιμο) τμήμα του εξονίου 8, όπου βρίσκονταν η θέση δράσης του ενζύμου AluI. Η προσθήκη των περιοριστικών ενζύμων (Gibco BRL) οδηγούσε στην παραγωγή προϊόντων πέψης (enzyme digestion products) του γενετικού υλικού, τα οποία διαχωρίζονταν με την εφαρμογή ηλεκτροφόρησης σε γέλη αγαρόζης 2% και τα περιοριστικά πρότυπα (RFLP patterns) απεικονίζονταν με τη χρήση βρωμιούχου αιθιδίου σε υπεριώδη φωτισμό. Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν ενώ προσδιορίστηκε εκ νέου ο γονότυπος τυχαίων δειγμάτων για τη διασφάλιση του ελέγχου της ποιότητας των αποτελεσμάτων. Τέλος, όλες οι αναλύσεις περιελάμβαναν δείγματα ελέγχου για κάθε γονότυπο καθώς και τυφλά δείγματα.

8.5 Εργαστηριακές εξετάσεις

Οι μετρήσεις των κλασικών ορμονικών και μεταβολικών παραμέτρων έγιναν στο Βιοχημικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Μικροσωματιδιακές ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της οιστραδιόλης και θυλακιοτρόπου ορμόνης ορού (AxSYM Estradiol, AxSYM FSH, respectively; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA). Τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, των τριγλυκεριδίων και της γλυκόζης νηστείας καθορίστηκαν με τη βοήθεια καθιερωμένων μεθόδων σε αναλυτή Olympus AU640 Clinical Chemistry Analyzer (Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg, Germany). Η χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών υπολογίστηκε με τη χρήση του τύπου του Friedewald : $LDL-c = \text{Ολική χοληστερόλη} - HDL-c - (\text{Τριγλυκερίδια}/5)$.

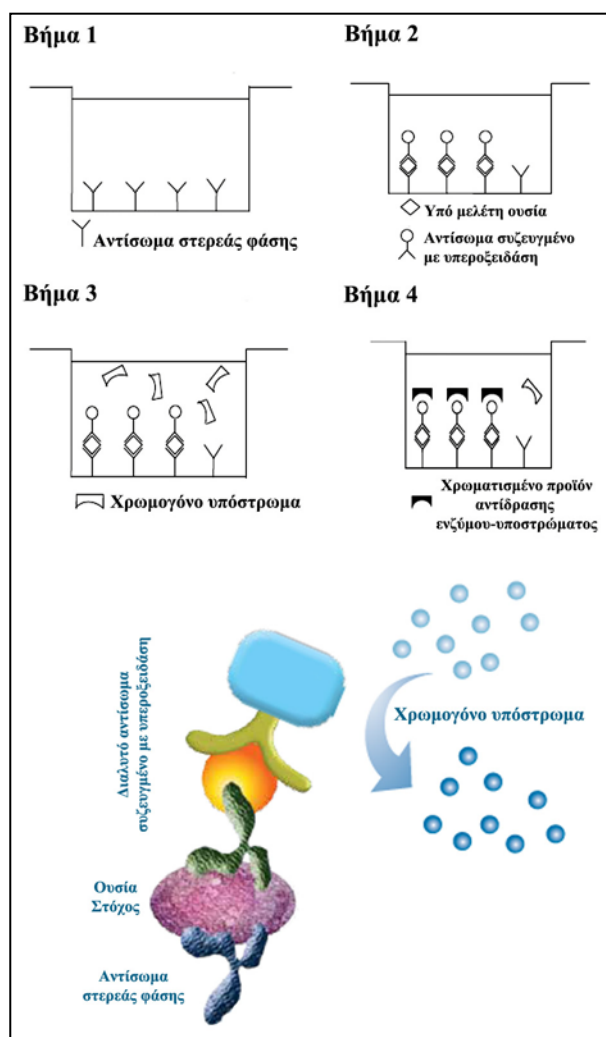
Η ανάλυση των δειγμάτων ορού αίματος για τον καθορισμό των επιπέδων των δεικτών αγγειακής φλεγμονής έγινε σε συνεργασία με το Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, ενώ η φυγοκέντρηση των δειγμάτων αίματος έγινε εξ αρχής αμέσως μετά τη λήψη των δειγμάτων στο εργαστήριο Φυσιολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα δείγματα αίματος που προορίζονταν για τον προσδιορισμό των επιπέδων των προ-φλεγμονωδών μορίων και μορίων προσκόλλησης φυγοκεντρούνταν στις 3500 στροφές/λεπτό για διάστημα περίπου 10 λεπτών της ώρας. Από τη στιγμή της αιμοληψίας και μέχρι τη φυγοκέντρηση (1–4 ώρες) τα δείγματα διατηρούνταν στους 4°C. Μετά

τη φυγοκέντρηση ο ορός που απομονώνονταν διαιρούνταν σε μικρές ποσότητες των 0,5 ml (Eppendorf) και διατηρούνταν στους -80°C μέχρι να αναλυθεί.

Η μέτρηση των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης έγινε με τη χρήση νεφελομετρίας σε αναλυτή IMMAGE Immunochemistry system (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). Το ελάχιστο επίπεδο ανίχνευσης στο πλάσμα ήταν 0.02 mg/L. Ο προσδιορισμός των επιπέδων του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1, της P-Σελεκτίνης και του μορίου sCD40L έγινε με τη χρήση ειδικών για κάθε μόριο ανοσοενζυμικών μεθόδων ανίχνευσης (enzyme-linked immunosorbent assay, *ELISA*) (Bender MedSystems GmbH, Austria) και σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Για την τεχνική αυτή οι πλάκες μικροτιτλοποίησης (microwells) επιστρώνονται αρχικά με ειδικά για την υπό μελέτη ουσία αντισώματα και ακολουθεί η προσθήκη του δείγματος (π.χ. πλάσμα, ορός αίματος, κ.α.). Τα υπό μελέτη αντιγόνα συνδέονται με τα αντισώματα αυτά και ακινητοποιούνται στη στερεά φάση. Σεσημασμένα με υπεροξειδάση αντισώματα ανίχνευσης (horseradish peroxidase, *HRP*) του υπό μελέτη αντιγόνου προστίθενται και προσδένονται στα αντιγόνα τα οποία βρίσκονται καθηλωμένα στη στερεά φάση. Τα σεσημασμένα αντισώματα που περισσεύουν απομακρύνονται με ειδικό διάλυμα πλύσης. Η προσθήκη διαλύματος χρωμογόνου υποστρώματος (tetramethyl benzidine, *TMB*) προκαλεί μια αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος (υπεροξειδάσης-χρωμογόνου-υπεροξειδίου υδρογόνου), η οποία οδηγεί σε χαρακτηριστικό χρωματισμό. Η αντίδραση αυτή τερματίζεται με την προσθήκη οξέος και με τη χρήση φωτομετρίας εκτιμάται η απορρόφηση φωτός σε μήκος κύματος 450 nm, η οποία είναι ανάλογη με το ποσό της υπό μελέτη ουσίας στο δείγμα που χρησιμοποιήθηκε (**Εικόνα 8.7**). Η καμπύλη απορρόφησης φωτός – συγκέντρωσης δημιουργείται με τη βοήθεια δειγμάτων ελέγχου με γνωστή συγκέντρωση της υπό μελέτη ουσίας. Η επαναληψιμότητα (coefficient of variation) των προηγούμενων δοκιμασιών εκτιμήθηκε με ανεξάρτητα από την παρούσα μελέτη πειράματα και ήταν 4.1%, 7.8% και 4.0% για τις δοκιμασίες του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1, της P-Σελεκτίνης και του μορίου sCD40L αντίστοιχα. Τα ελάχιστα όρια ανίχνευσης του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1, της P-Σελεκτίνης και του μορίου sCD40L στον ορό ήταν 2.17 ng/ml, 0.20 ng/ml και 0.062 ng/ml αντίστοιχα.

8.6 Εκτίμηση εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων

Η εκτίμηση της βαρύτητας των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων έγινε με τη χρήση ερωτηματολογίου βασισμένου στην Κλίμακα Βαθμολόγησης Εμμηνοπαυσιακών Συμπτωμάτων (Menopause Rating Scale – MRS). Η κλίμακα αυτή προορίζονταν για την εκτίμηση της ποιότητας ζωής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που εμφάνιζαν συμπτώματα εμμηνοπαυσης καθώς και την επίδραση διαφόρων μορφών θεραπείας στη βαρύτητα των συμπτωμάτων αυτών [656]. Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη συμπλήρωναν το ερωτηματολόγιο κατά την πρώτη επίσκεψή τους στο ιατρείο καθώς και στη δεύτερη επίσκεψη στους 3 μήνες παρακολούθησης. Τα συμπτώματα που εκτιμήθηκαν με τη βοήθεια του ερωτηματολογίου ήταν: εξάψεις και εφιδρώσεις (αγγειοκινητικά συμπτώματα), προκάρδια δυσφορία (αίσθημα παλμών, νυγμώδη άλγη κτλ), διαταραχές ύπνου, μελαγχολική διάθεση, ευερεθιστότητα, άγχος, φυσική και πνευματική κόπωση, σεξουαλική δυσλειτουργία, διαταραχές ουροδόχου κύστης, ξηρότητα κόλπου και αρθραλγίες/μυαλγίες. Οι γυναίκες μπορούσαν να βαθμολογήσουν καθένα από τα παραπάνω συμπτώματα ανάλογα με τη βαρύτητα που παρατηρούσαν από 0 (χωρίς σύμπτωμα) έως 4 (πολύ σοβαρό σύμπτωμα) όπως τα αντιλαμβάνονταν κατά τη διάρκεια των προηγούμενων 2 εβδομάδων από την επίσκεψή τους στο ιατρείο. Ειδικά για τα αγγειοκινητικά συμπτώματα, οι γυναίκες ταξινομήσαν τα συμπτώματά τους ως ακολούθως: ήπια, αν διαρκούσαν λιγότερο από 5 λεπτά και υποχωρούσαν αυτόματα χωρίς να επηρεά-



Εικόνα 8.7. Βασική αρχή και βήματα της μεθόδου ανοσοενζυμικής ανίχνευσης (ELISA) των μορίων φλεγμονής (Bender MedSystems GmbH, Austria).

σύνπτωμα) έως 4 (πολύ σοβαρό σύμπτωμα) όπως τα αντιλαμβάνονταν κατά τη διάρκεια των προηγούμενων 2 εβδομάδων από την επίσκεψή τους στο ιατρείο. Ειδικά για τα αγγειοκινητικά συμπτώματα, οι γυναίκες ταξινομήσαν τα συμπτώματά τους ως ακολούθως: ήπια, αν διαρκούσαν λιγότερο από 5 λεπτά και υποχωρούσαν αυτόματα χωρίς να επηρεά-

ζουν την καθημερινή ζωή· μέτρια, αν διαρκούσαν λιγότερο από 15 λεπτά και επηρέαζαν την καθημερινή δραστηριότητα των γυναικών μόνο κατά τη διάρκεια της ημέρας· σοβαρά, αν διαρκούσαν έως 20 λεπτά επηρέαζοντας τη ζωή των γυναικών κατά τη διάρκεια της ημέρας και του ύπνου· πολύ σοβαρά αν διαρκούσαν έως και 45 λεπτά επηρέαζοντας τη ζωή των γυναικών κατά τη διάρκεια της ημέρας και του ύπνου.

Παρά το γεγονός ότι η καταγραφή των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων εμπειρέχει πάντα ως ένα βαθμό το στοιχείο της υποκειμενικότητας της κάθε γυναίκας που περιγράφει τα συμπτώματά της, δεν θεωρούμε ότι υπήρξε κάποιο σημαντικό συστηματικό σφάλμα στην καταγραφή των συμπτωμάτων το οποίο θα μπορούσε να επηρεάσει θετικά ή αρνητικά τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Έχει δειχτεί εξάλλου ότι η αναδρομική αναφορά της βαρύτητας των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων για το χρονικό διάστημα των τελευταίων δυο εβδομάδων από την ημερομηνία της εξέτασης έχει πολύ καλή συσχέτιση με την αληθινή καθημερινή καταγραφή των συμπτωμάτων [657].

8.7 Στατιστική ανάλυση

Οι τιμές των συνεχών μεταβλητών παρουσιάζονται στα αποτελέσματα ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (standard deviation). Όλες οι συνεχείς μεταβλητές στους διάφορους μελετώμενους πληθυσμούς ελέγχθηκαν ως προς την κανονική κατανομή με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας Z Kolmogorov-Smirnov. Οι μεταβλητές με μη κανονική κατανομή υπέστησαν λογαριθμική μεταβολή και στη μελέτη συσχετίσεων και παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν οι φυσικοί τους λογάριθμοι. Επιπλέον, έγινε ανάλυση με τη δοκιμασία χ^2 για την διερεύνηση του κατά πόσο οι παρατηρούμενες συχνότητες των γονοτύπων των οιστρογονικών υποδοχέων ήταν σε συμφωνία με την αρχή της ισορροπίας κατά Hardy-Weinberg. Ο νόμος των Hardy και Weinberg ορίζει ότι σε έναν ορισμένο πληθυσμό οι συχνότητες τόσο των αλληλίων όσο και των γονοτύπων παραμένουν σταθερές από γενιά σε γενιά εκτός αν επισυμβούν συγκεκριμένα πράγματα, όπως η διαδικασία της επιλογής, η μελέτη ανεπαρκούς και μη αντιπροσωπευτικού δείγματος του πληθυσμού, μεταλλάξεις κ.α.

8.7.1 Υπομελέτη πρώτη

Η ηλικία, ο χρόνος από την τελευταία έμμηνο ρύση, η οιστραδιόλη και η γλυκόζη νηστείας, η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, οι τιμές ροής της βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτροδών και η επί τοις εκατό μεταβολή της ροής της βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτροδών δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή. Για τη σύγκριση των μελετώμενων μεταβλητών μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και του συνόλου των εμμηνοπαυσιακών γυναικών χρησιμοποιήθηκαν: η στατιστική δοκιμασία χ^2 για τη σύγκριση διακριτών μεταβλητών, η δοκιμασία unpaired t-test για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών με κανονική κατανομή και η δοκιμασία Mann-Whitney U-test για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών με μη κανονική κατανομή. Οι διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών σε δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και φλεγμονής σταθμίστηκαν ως προς άλλες τυχόν διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων π.χ. αρτηριακή πίεση, λιπίδια κ.α. με τη βοήθεια μοντέλων μονοπαραγοντικής γενικής γραμμικής ανάλυσης (GLM analysis).

Οι συγκρίσεις των μεταβλητών μεταξύ των διαφόρων γονοτύπων στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες έγιναν με τη μελέτη ανάλυσης διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (One-way Analysis of Variance – ANOVA) και τη διόρθωση με τη δοκιμασία Bonferroni ή τη χρήση της δοκιμασίας unpaired t-test ανάλογα με το μοντέλο ανάλυσης των αλληλίων που επιλέγονταν κάθε φορά (ισοδύναμα, επικρατή, υπολειπόμενα). Για μη κανονικές μεταβλητές οι αντίστοιχες συγκρίσεις έγιναν με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας κατά Kruskal-Wallis και Mann-Whitney U-test.

Οι συντελεστές συσχέτισης Pearson (μεταβλητές με κανονικές κατανομές) και Spearman (μεταβλητές με μη κανονικές κατανομές ή διακριτές μεταβλητές) υπολογίστηκαν μεταξύ των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής και όλων των λοιπών δημογραφικών, κλινικών, βιοχημικών και γενετικών παραμέτρων. Ακολουθώντας με τη χρήση μελέτης γραμμικής παλινδρόμησης (linear regression analysis) έγινε προσπάθεια προσδιορισμού πιθανών ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης δημιουργήθηκαν με τη χρήση ως ανεξάρτητων μεταβλητών των παραγόντων εκείνων που εμφάνισαν συσχετίσεις με τις εξαρτημένες μεταβλητές σε προκαθορισμένο όριο της τιμής του κριτηρίου $p < 0.1$.

Η διερεύνηση των διαφορών σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ των διαφόρων υποομάδων εμμηνοπαυσιακών γυναικών με ποικίλης βαρύτητας αγγειοκινητικά συμπτώματα έγινε με την ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα και τη δοκιμασία κατά Kruskal-Wallis για μεταβλητές με κανονική και μη κανονική κατανομή αντίστοιχα. Λόγω της ύπαρξης διαφοράς στους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ εμμηνοπαυσιακών γυναικών ανάλογα με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων τους, η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων αντιμετωπίστηκε επιπλέον και ως διχοτομημένη διακριτή μεταβλητή με βάση τα αποτελέσματα της προηγούμενης ανάλυσης. Οι συγκρίσεις των μεταβλητών μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών με διαφορετικής βαρύτητας εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα έγιναν με τη μελέτη ανάλυσης διακύμανσης κατά έναν παράγοντα και τη διόρθωση με τη δοκιμασία Bonferroni.

8.7.2 Υπομελέτη δεύτερη

Για τη σύγκριση των μελετώμενων μεταβλητών μεταξύ εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ορμονική θεραπεία και αυτών που δεν έλαβαν χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία χ^2 για σύγκριση διακριτών μεταβλητών και η δοκιμασία unpaired t-test για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών (όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσίαζαν κανονική κατανομή). Η διερεύνηση των αλλαγών που επήλθαν στις δυο ομάδες μετά τους 3 μήνες παρακολούθησης (με ή χωρίς τη χορήγηση θεραπείας) εκτιμήθηκε με τη χρήση της δοκιμασίας paired t-test. Η στατιστική δοκιμασία Οριακής Ομοιογένειας (Marginal Homogeneity test) χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη των μεταβολών στη βαρύτητα των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων μετά από 3 μήνες. Η ανάλυση διακύμανσης με επαναληπτικές μετρήσεις (Repeated measures ANOVA) χρησιμοποιήθηκε για την απευθείας σύγκριση των μεταβολών που παρατηρήθηκαν στις δυο ομάδες μετά από στάθμιση για την ηλικία λόγω ύπαρξης μιας μικρής διαφοράς στην ηλικία μεταξύ των δυο ομάδων (οριακά μη σημαντική $p < 0.07$) και της διαφοράς στη συχνότητα εμφάνισης των γονοτύπων του πολυμορφισμού PvuII T/C του οιστρογονικού υποδοχέα α . Τέλος, οι συγκρίσεις των δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ των εμμηνοπαυσιακών γυναικών μετά τους 3 μήνες λήψης ορμονικής θεραπείας και των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών (αποκατάσταση στο φυσιολογικό?) πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της δοκιμασίας unpaired

t-test για συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή και της δοκιμασίας Mann-Whitney U-test για συνεχείς μεταβλητές μη κανονικής κατανομής.

Η διερεύνηση της επίδρασης των διαφορετικών γονοτύπων των μελετώμενων πολυμορφισμών των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων στις μεταβολές που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε μεταβολικές παραμέτρους και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής έγινε με τη χρήση ανάλυσης της διακύμανσης κατά ένα παράγοντα και τη διόρθωση με τη δοκιμασία Bonferroni ή τη χρήση της δοκιμασίας unpaired t-test ανάλογα με το μοντέλο ανάλυσης των αλληλίων που επιλέγονταν κάθε φορά (ισοδύναμα, επικρατή, υπολειπόμενα). Για μη κανονικές μεταβλητές οι αντίστοιχες συγκρίσεις έγιναν με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας κατά Kruskal-Wallis και Mann-Whitney U-test.

Ο καθορισμός ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων των μεταβολών σε δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και φλεγμονής που οφείλονταν στη χορήγηση ορμονικής θεραπείας πραγματοποιήθηκε με μελέτη γραμμικής παλινδρόμησης. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές που εισήχθησαν στα μοντέλα παλινδρόμησης ήταν οι απόλυτες μεταβολές παραμέτρων που έδειξαν στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$) διαφορά πριν και μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας καθώς και οι πολυμορφισμοί των οιστρογονικών υποδοχέων που εμφάνιζαν κάποια συσχέτιση με τις μεταβολές των δεικτών όπως διαπιστώθηκε από την αμέσως προηγούμενη ανάλυση.

Ανάλυση δύναμης μελέτης: Με βάση τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών υπολογίστηκε ότι 40 άτομα θα παρείχαν >90 % δύναμη για να ανιχνευτεί >2 % απόλυτη διαφορά στη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, $>20\%$ μείωση των επιπέδων του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 και της P-Σελεκτίνης και >35 % μείωση στα επίπεδα του μορίου sCD40L μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας με $\alpha=0.05$ [133, 318, 339, 517, 658, 659].

Σε όλες τις στατιστικές δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη το κριτήριο p ήταν διπλής διεύθυνσης και το όριο της τιμής του κριτηρίου p κάτω από το οποίο η δοκιμασία θεωρούνταν σημαντική ήταν $p < 0.05$. η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης έγινε με τη βοήθεια του πακέτου στατιστικού λογισμικού SPSS (έκδοση 15.0 για Windows, SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο

Αποτελέσματα

(Υπομελέτη 1)

9.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των πληθυσμών των εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών παρουσιάζονται αναλυτικά στον **Πίνακα 9.1**. Η ηλικία των εμμηνοπαυσιακών γυναικών που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν 49.7 ± 3.9 έτη. Η τελευταία έμμηνος ρύση των γυναικών αυτών χρονολογούνταν κατά μέσο όρο πριν 14.0

Πίνακας 9.1. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών

	Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=120)	Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24)	Κριτήριο P
Ηλικία, έτη*	49.7 ± 3.9	48.8 ± 3.0	0.116
Τελευταία έμμηνος ρύση, μήνες	14.0 ± 12.3	-	-
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, N (%)	18 (15.0)	2 (8.4)	0.400
Κάπνισμα, N (%)			
Ποτέ	90 (75.0)	17 (70.8)	
Πρώην	9 (7.5)	3 (12.5)	
Νυν	21 (17.5)	4 (16.7)	0.721
Άσκηση, N (%)			
Καθόλου	62 (51.7)	13 (54.2)	
<5 ημέρες/εβδομάδα	49 (40.8)	8 (33.3)	
Καθημερινή	9 (7.5)	3 (12.5)	0.635
Ιστορικό ορμονικής θεραπείας, N (%)	10 (8.3)	-	-

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση* εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

*Η σύγκριση των ηλικιών των δυο ομάδων έγινε με τη δοκιμασία Mann-Whitney U-test

± 12.3 μήνες από την εμφάνισή τους στα ιατρεία. Από τις υπόλοιπες πληροφορίες του ιστορικού προκύπτει ότι 15.0% είχε γνωστό οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, 52% διάγουν καθιστική ζωή χωρίς κάποιο τακτικό πρόγραμμα άσκησης, 17.5% ανέφεραν ότι κάπνιζαν και 8% είχαν λάβει κατά το παρελθόν κάποιου είδους ορμονική θεραπεία υποκατάστασης κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση. Οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με τις προεμμηνόπαυσιακές ως προς την ηλικία ($p=0.116$), το οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου ($p=0.400$), το κάπνισμα ($p=0.721$) και το επίπεδο άσκησης ($p=0.635$) (**Πίνακας 9.1**).

Τα πιο συχνά εμμηνόπαυσιακά συμπτώματα που ανέφεραν οι γυναίκες ήταν οι εξάψεις και εφιδρώσεις (85%) ενώ ακολουθούσαν κατά φθίνουσα συχνότητα οι διαταραχές ύπνου (65%), η εύκολη φυσική και πνευματική κόπωση (58%), η μελαγχολική διάθεση (55%) και η ατροφία κόλπου (55%) (**Πίνακας 9.2**). Η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων (εξάψεις και εφιδρώσεις) όπως καταγράφηκε αναλυτικά στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες ήταν: χωρίς συμπτώματα 16%, ήπια 10%, μέτρια 28%, σοβαρά 22% και πολύ σοβαρά 24% (**Πίνακας 9.2**).

Πίνακας 9.2. Συχνότητα εμφάνισης και βαρύτητα εμμηνόπαυσιακών συμπτωμάτων στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες (N=120)

Αγγειοκινητικά συμπτώματα, N(%)		Εύκολη κόπωση, N(%)	
Καθόλου	19(15.8)	0	51(42.5)
Ήπια	12(10.0)	1	9(7.5)
Μέτρια	34(28.3)	2	28(23.3)
Σοβαρά	26(21.7)	3	23(19.2)
Πολύ σοβαρά	29(24.2)	4	9(7.5)
Προκάρδια δυσφορία, N(%)		Σεξουαλικές διαταραχές, N(%)	
0	90(75.0)	0	67(55.8)
1	8(6.7)	1	13(10.8)
2	13(10.8)	2	25(20.8)
3	9(7.5)	3	8(6.7)
4	0(0.0)	4	7(5.8)
Διαταραχές ύπνου, N(%)		Διαταραχές ουροδόχου κύστεως, N(%)	
0	44(36.7)	0	97(80.8)
1	10(8.3)	1	8(6.7)
2	20(16.7)	2	11(9.2)
3	39(32.5)	3	4(3.3)
4	7(5.8)	4	0(0.0)

Μελαγχολική διάθεση, N(%)		Ξηρότητα κόλπου, N(%)	
0	55(45.8)	0	55(45.8)
1	13(10.8)	1	11(9.2)
2	24(20.0)	2	24(20.0)
3	27(22.5)	3	22(18.3)
4	1(0.8)	4	8(6.7)
Ευερεθιστότητα, N(%)		Μυοσκελετικές διαταραχές, N(%)	
0	63(52.5)	0	104(86.7)
1	12(10.0)	1	6(5.0)
2	18(15.0)	2	6(5.0)
3	24(20.0)	3	2(1.7)
4	3(2.5)	4	2(1.7)
Αγχώδεις διαταραχές, N(%)			
0	106(88.3)		
1	4(3.3)		
2	5(4.2)		
3	5(4.2)		
4	0(0.0)		

9.2 Μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι

Οι εμμηνόπαυσιαικές γυναίκες δεν παρουσίαζαν διαφορές στο δείκτη μάζας σώματος, τη γλυκόζη νηστείας, τα τριγλυκερίδια και τη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (τιμή κριτηρίου $p < 0.05$ για όλα) (**Πίνακας 9.3**). Παράλληλα, παρατηρήθηκε μια τάση για υψηλότερες τιμές συστολικής αρτηριακής πίεσης (κατά 4% περίπου, $p = 0.09$), ολικής χοληστερόλης (κατά 6% περίπου, $p = 0.07$) και χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (κατά 8% περίπου, $p = 0.09$) στις εμμηνόπαυσιαικές γυναίκες χωρίς όμως οι διαφορές αυτές να φτάνουν το όριο του στατιστικά σημαντικού (**Πίνακας 9.3**). Αντίθετα, οι εμμηνόπαυσιαικές γυναίκες παρουσίαζαν στατιστικά υψηλότερες τιμές διαστολικής αρτηριακής πίεσης (κατά 5% περίπου, $p = 0.02$) και θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p < 0.001$) και χαμηλότερες τιμές οιστραδιόλης ορού ($p < 0.001$) σε σύγκριση με τις προεμμηνόπαυσιαικές γυναίκες (**Πίνακας 9.3**).

Πίνακας 9.3. Μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι στις εμμηνοπαυσιακές και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

	Εμμηνοπαυσιακές	Προεμμηνοπαυσιακές	Κριτήριο p
	γυναίκες (N=120)	γυναίκες (N=24)	
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	26.87±3.70	27.93±4.58	0.221
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	124±15	119±10	0.086
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	80±8	76±8	0.018
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	92±11	94±14	0.342
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	226±33	213±30	0.066
Τριγλυκερίδια, mg/dl	109±46	100±34	0.365
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	61±13	60±11	0.823
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	144±28	133±28	0.090
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	69.4±25.2	11.4±6.8	<0.001
Οιστραδιόλη, pg/ml	16.1±5.6	84.7±76.5	<0.001

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*

9.3 Υπερηχογραφικοί δείκτες αγγειακής λειτουργίας

Η βασική διάμετρος, η ροή σε ηρεμία, η μεταβολή της ροής μετά την αντιδραστική υπεραιμία και τη χορήγηση νιτρωδών και η νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας δεν διέφεραν μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών (τιμή κριτηρίου $p > 0.05$ για όλα) (Πίνακας 9.4). Η μέγιστη και στο πρώτο λεπτό ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας καθώς και η επί τοις εκατό μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία παρουσίαζαν σημαντική μείωση κατά 38%, 48% και 45% αντίστοιχα ($p < 0.001$ για όλα) στις εμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Πίνακας 9.4). Μετά από στάθμιση για τις διαφορές στη διαστολική πίεση μεταξύ των δυο ομάδων η εμμηνοπαυσιακή κατάσταση εξακολουθούσε να σχετίζεται με μειωμένη μέγιστη (5.45 έναντι 8.64 %, $p < 0.001$) και στα 60 δευτερόλεπτα (3.96 έναντι 7.52 %, $p < 0.001$) ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας καθώς και την επί τοις εκατό με-

ταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου– χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία (3.15 έναντι 5.65 %, $p<0.001$). Καμιά διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών στη μέση και μέγιστη τιμή του πάχους έσω μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (Πίνακας 9.4).

Πίνακας 9.4. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας – υποκλινικής αθηρωμάτωσης σε εμμηνοπαυσιακές και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

	Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=120)	Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24)	Κριτήριο P
Βασική διάμετρος βραχιονίου αρτηρίας, mm	3.71±0.44	3.63±0.31	0.254
Βασική ροή βραχιονίου αρτηρίας, ml/min	168±96	174±74	0.790
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	5.43±2.53	8.74±3.17	<0.001
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	3.94±3.07	7.63±3.11	<0.001
Μεταβολή ροής βραχιονίου αρτηρίας στην υπεραιμία, %	450±277	443±263	0.854
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου βραχιονίου αρτηρίας – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία, %	3.13±2.17	5.72±2.30	<0.001
Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	16.88±5.91	17.92±5.64	0.461
Μεταβολή ροής βραχιονίου αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών, %	-4±60	-10±38	0.647
Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων, mm	0.562±0.060	0.560±0.057	0.894
Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων, mm	0.585±0.070	0.581±0.056	0.826

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*

9.4 Δείκτες αγγειακής φλεγμονής

Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερες τιμές του μορίου sCD40L (κατά 44%, $p=0.02$) και της P-Σελεκτίνης (κατά 26%, $p=0.006$) σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές (Πίνακας 9.5). Αντιθέτως, τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 δεν διέφεραν μεταξύ των δυο ομάδων (Πίνακας 9.5). Μετά από στάθμιση για τις διαφορές στη διαστολική πίεση μεταξύ των δυο ομάδων οι διαφορές στο μόριο sCD40L (5.9 έναντι 4.2 ng/ml, $p=0.04$) και την P-Σελεκτίνη (136 έναντι 111 ng/ml, $p=0.01$) μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών παρέμεναν σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα.

Πίνακας 9.5. Δείκτες αγγειακής φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

	Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=120)	Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24)	Κριτήριο P
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	641±220	701±244	0.244
P-Σελεκτίνη, ng/ml	137±44	109±37	0.006
sCD40L, ng/ml	5.89±3.37	4.07±3.17	0.018
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐ- νη, mg/l	2.14±2.31	2.76±2.69	0.393

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

9.5 Ανάλυση συσχετίσεων δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Οι παράμετροι, οι οποίες παρουσίαζαν συσχετίσεις με τους διάφορους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στο επίπεδο του κριτηρίου $p<0.1$, χρησιμοποιήθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση και τη δημιουργία μοντέλων πρόγνωσης των δεικτών αυτών (Πίνακες 9.6 και 9.7). Αμέσως πιο κάτω περιγράφονται αναλυτικά οι στατιστικά σημαντικές (τιμή κριτηρίου $p<0.05$) συσχετίσεις των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής με διάφορες δημογραφικές, κλινικές, μεταβολικές και ορμονικές παραμέτρους

στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι με εξαίρεση τα αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα, οι υπόλοιπες κατηγορίες εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων δεν παρουσίαζαν σημαντικές συσχετίσεις με τις μελετώμενες παραμέτρους (τιμή κριτηρίου $p > 0.1$).

- ✓ Η μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας παρουσίαζε θετική συσχέτιση με τη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p=0.001$) και αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 ($p=0.026$) και τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p < 0.001$).
- ✓ Η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας στα 60 δευτερόλεπτα μετά την υπεραιμία παρουσίαζε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p=0.009$) και αρνητική συσχέτιση με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p < 0.001$).
- ✓ Η επί τοις εκατό μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία σχετίζονταν θετικά με τη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p=0.002$) και αρνητικά με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p < 0.001$).
- ✓ Η νιτροωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία παρουσίαζε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p=0.044$) και αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων ($p=0.033$), την ηλικία ($p=0.018$), τη γλυκόζη νηστείας ($p=0.014$) και τη διάμετρο της βραχιόνιας αρτηρίας κατά την ηρεμία ($p < 0.001$).
- ✓ Η μέση τιμή του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων παρουσίαζε θετική συσχέτιση με τη συστολική αρτηριακή πίεση ($p=0.004$) και την ηλικία ($p=0.015$).
- ✓ Η μέγιστη τιμή του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων σχετίζονταν επίσης θετικά με τη συστολική αρτηριακή πίεση ($p=0.011$) και την ηλικία ($p=0.001$).

Πίνακας 9.6. Συσχετίσεις υπερηχογραφικών δεικτών αγγειακής λειτουργίας με δημογραφικές, κλινικές, μεταβολικές και ορμονικές παραμέτρους

	Συντελεστής συσχέτισης (r)	Κριτήριο p
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %		
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.396	<0.001
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη	0.306	0.001
Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας	-0.176	0.054
Ολική χοληστερόλη	0.169	0.065
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %		
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.320	<0.001
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη	0.239	0.009
Θυλακιοτρόπος ορμόνη	-0.175	0.056
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, %		
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.326	<0.001
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη	0.274	0.002
Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %		
Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας	-0.503	<0.001
*Ln(Γλυκόζη νηστείας)	-0.241	0.014
*Ln(Ηλικία)	-0.234	0.018
Τριγλυκερίδια	-0.211	0.033
Θυλακιοτρόπος ορμόνη	-0.200	0.044
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου	-0.178	0.073
Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων, mm		
Συστολική αρτηριακή πίεση	0.262	0.004
*Ln(Ηλικία)	0.221	0.015
Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων, mm		
*Ln(Ηλικία)	0.289	0.001
Συστολική αρτηριακή πίεση	0.232	0.011

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

*Οι συγκεκριμένες μεταβλητές υπέστησαν λογαριθμική τροποποίηση (Ln=φυσικός λογάριθμος) λόγω μη κανονικής κατανομής και προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε αναλύσεις συσχετίσεων και παλινδρόμησης.

- ✓ Τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σχετίζονταν θετικά με το δείκτη μάζα σώματος ($p < 0.001$) και τα τριγλυκερίδια ($p = 0.002$) και αρνητικά με τα επίπεδα της θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p < 0.001$) και τη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p = 0.034$).
- ✓ Τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 παρουσίαζαν θετική συσχέτιση με το δείκτη μάζας σώματος ($p = 0.014$) και τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p = 0.001$) και αρνητική συσχέτιση με το χρόνο από την τελευταία έμμηνο ρύση ($p = 0.013$).
- ✓ Τα επίπεδα του μορίου sCD40L σχετίζονταν θετικά με τα επίπεδα της P-Σελεκτίνης ($p < 0.001$), τη συστολική αρτηριακή πίεση ($p = 0.024$) και τα επίπεδα της θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p = 0.033$).
- ✓ Τα επίπεδα της P-Σελεκτίνης σχετίζονταν θετικά με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων ($p = 0.021$) και το ιστορικό προηγούμενης λήψης ορμονικής θεραπείας ($p = 0.024$).

Πίνακας 9.7. Συσχετίσεις δεικτών αγγειακής φλεγμονής με δημογραφικές, κλινικές, μεταβολικές και ορμονικές παραμέτρους

	Συντελεστής συσχέτισης (r)	Κριτήριο p
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, ng/ml		
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.310	<0.001
*Ln(Τελευταία έμμηνο ρύση)	-0.228	0.013
Δείκτης μάζας σώματος	0.226	0.014
Τριγλυκερίδια	0.166	0.074
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου	0.164	0.078
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη	-0.159	0.087
P-Σελεκτίνη, ng/ml		
Τριγλυκερίδια	0.213	0.021
Ιστορικό προηγούμενης λήψης ορμονικής θεραπείας	0.209	0.024
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	0.172	0.064

Δείκτης μάζας σώματος	0.154	0.098
sCD40L, ng/ml		
Συστολική αρτηριακή πίεση	0.209	0.024
Θυλακιοτρόπος ορμόνη	0.197	0.033
Διαστολικά αρτηριακή πίεση	0.173	0.062
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l		
Δείκτης μάζας σώματος	0.539	<0.001
Θυλακιοτρόπος ορμόνη	-0.314	0.001
Τριγλυκερίδια	0.286	0.002
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη	-0.196	0.034

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή **μέση τιμή ± τυπική απόκλιση**.

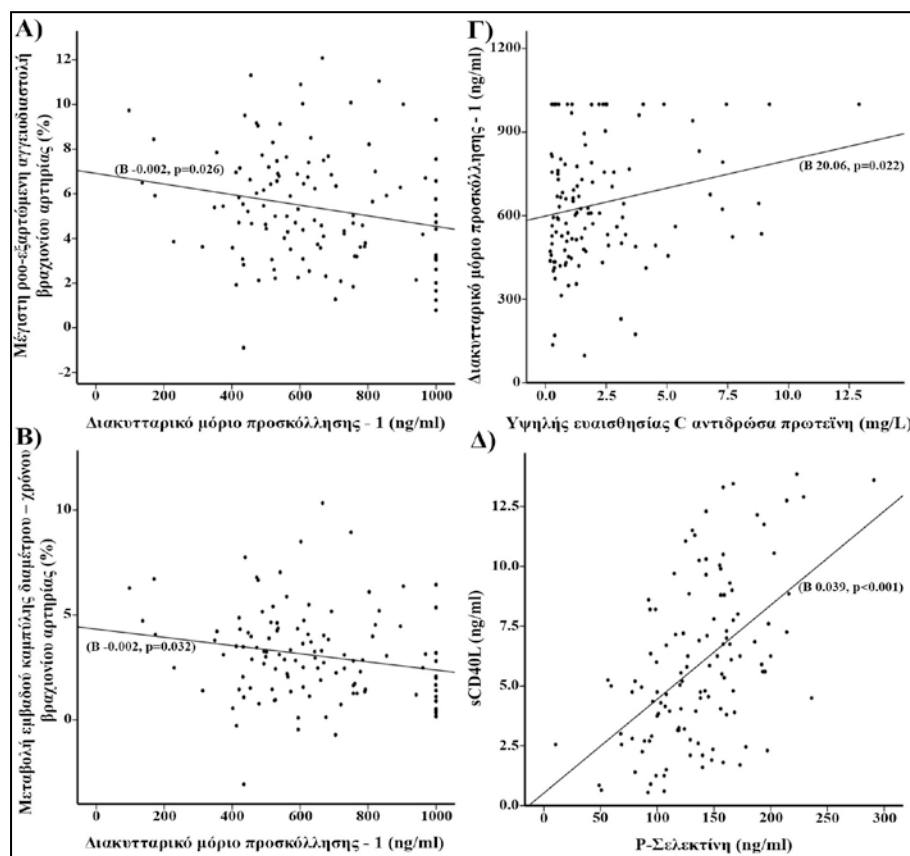
*Οι συγκεκριμένες μεταβλητές υπέστησαν λογαριθμική τροποποίηση (Ln=φυσικός λογάριθμος) λόγω μη κανονικής κατανομής και προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε αναλύσεις συσχετίσεων και παλινδρόμησης.

Πίνακας 9.8. Συσχετίσεις μεταξύ των μελετώμενων δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής

	HsCRP	sCD40L	P-Selectin	ICAM-1	IMTmax	IMTmean	NMD	AUC	FMD60
FMDmax	r -0.034 p=0.714	r -0.137 p=0.140	r -0.103 p=0.267	r -0.206 p=0.026	r -0.139 p=0.129	r -0.127 p=0.165	r 0.140 p=0.161	r 0.892 p<0.001	r 0.789 p<0.001
FMD60''	r -0.074 p=0.426	r -0.111 p=0.232	r -0.099 p=0.289	r -0.171 p=0.065	r -0.056 p=0.542	r -0.062 p=0.502	r 0.169 p=0.090	r 0.759 p<0.001	
AUC	r -0.110 p=0.239	r -0.134 p=0.149	r -0.084 p=0.370	r -0.199 p=0.032	r -0.080 p=0.386	r -0.079 p=0.389	r 0.029 p=0.770		
NMD	r -0.071 p=0.484	r -0.011 p=0.910	r -0.028 p=0.779	r -0.053 p=0.604	r -0.111 p=0.268	r -0.098 p=0.329			
IMTmean	r -0.060 p=0.521	r -0.105 p=0.261	r -0.0413 p=0.644	r 0.000 p=0.997	r 0.948 p<0.001				
IMTmax	r -0.059 p=0.530	r -0.117 p=0.211	r -0.021 p=0.822	r 0.003 p=0.977					
ICAM-1	r 0.188 p=0.042	r -0.046 p=0.624	r 0.075 p=0.422						
P-Selectin	r 0.012 p=0.900	r 0.517 p<0.001							
sCD40L	r -0.122 p=0.191								

Επεξήγηση συντομούσεων: FMDmax - μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, FMD60 - ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στα 60'' από την υπεραιμία, AUC - μεταβολή εμβαδού καμπύλης διαμέτρου-χρόνου στην υπεραιμία, NMD - νιτροδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, IMTmean & IMTmax - μέση και μέγιστη τιμή πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων, ICAM-1 - διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, P-Selectin - P-Σελεκτίνη, hsCRP - υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν επίσης και οι αλληλοσυσχετίσεις των διαφόρων δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ τους, καθώς υποδεικνύουν πιθανούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της υποκείμενης πρώιμης αγγειακής δυσλειτουργίας σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (**Πίνακας 9.8**). Οι δείκτες της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (μέγιστη και στα 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και η μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου-χρόνου στην αντιδραστική υπεραϊμία) εμφάνιζαν ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ τους ($p < 0.001$ για όλες τις συσχετίσεις). Η νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας (μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη) δεν παρουσίαζε καμία συσχέτιση με την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή. Το πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων δεν σχετιζόνταν ούτε με τους δείκτες της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης ούτε της νιτρωδο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Οι δείκτες αγγειακής φλεγμονής παρουσίαζαν θετική συσχέτιση μεταξύ τους (η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη με το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 και η P-Σελεκτίνη με το μόριο sCD40L), ενώ μόνο το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 παρουσίαζε αρνητική συσχέτιση με την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας (**Εικόνα 9.1**).



Εικόνα 9.1. Συσχετίσεις μεταξύ υπερηχογραφικών δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας και δεικτών αγγειακής φλεγμονής

9.6 Ανάλυση συσχέτισης γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων με κλινικές, μεταβολικές και αγγειακές παραμέτρους στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Οι συχνότητες εμφάνισης των αγρίου και μη αγρίου τύπου αλληλίων και των γονοτύπων των τριών μελετώμενων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων α και β στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9.9**. Οι γονότυποι των τριών πολυμορφισμών βρίσκονται σε ισορροπία κατά την αρχή των Hardy-Weinberg. Οι δυο πολυμορφισμοί του οιστρογονικού υποδοχέα α βρίσκονται σε ανισοποιοί σύνδεση ($p < 0.001$).

Η ανάλυση συσχέτισεων των γονοτύπων με διάφορες κλινικές, μεταβολικές, ορμονικές και αγγειακές παρα-

μέτρους παρουσιάζεται αναλυτικά στους **Πίνακες 9.10 έως 9.15**. Η ανάλυση έγινε τόσο για την περίπτωση ισοδυναμίας των δυο αλληλίων, όσο και για τις περιπτώσεις επικρατούς ή υπολειπόμενου αλληλίου σε κάθε πολυμορφισμό. Οι πολυμορφισμοί *PvuII 454-397T>C* και *XbaI 454-351A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα α παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα τριγλυκεριδίων ($p=0.047$ και $p=0.007$ αντίστοιχα). Ωστόσο η επιμέρους συγκρίσεις των γονοτύπων δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τον πολυμορφισμό *PvuII 454-397T>C* ενώ ο γονότυπος *XbaI GG* του οιστρογονικού υποδοχέα α σχετίζονταν με αυξημένες τιμές τριγλυκεριδίων σε σχέση με τους γονότυπους AA ή AG (κατά περίπου 30%, $p=0.034$). Ο γονότυπος *AluI AA* του οιστρογονικού υποδοχέα β σχετίζεται με μειωμένες τιμές συστολικής αρτηριακής πίεσης σε σχέση με τους γονότυπους AG ή GG (κατά περίπου 5%, $p=0.029$). Η παρουσία των γονοτύπων *PvuII TT/TC* παρουσίαζε μια τάση (μη στατιστικά σημαντική $p=0.054$) για υψηλότερες τιμές νιτρωδο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής κατά περίπου 20% σε σύγκριση με τον

Πίνακας 9.9. Συχνότητες αλληλίων και γονοτύπων των μελετώμενων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων α και β στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=120)

Οιστρογονικός υποδοχέας α	
<i>PvuII 454-397T>C</i>	
TT	27 (22.5)
TC	63 (52.5)
CC	30 (25.0)
Αλληλίο T (αγρίου τύπου)	48.75%
Αλληλίο C (μη αγρίου τύπου)	51.25%
<i>XbaI 454-351A>G</i>	
AA	39 (32.5)
AG	60 (50.0)
GG	21 (17.5)
Αλληλίο A (αγρίου τύπου)	57.5%
Αλληλίο G (μη αγρίου τύπου)	42.5%
Οιστρογονικός υποδοχέας β	
<i>AluI 1730A>G</i>	
AA	36 (30.0)
AG	60 (50.0)
GG	24 (20.0)
Αλληλίο A (αγρίου τύπου)	55.0%
Αλληλίο G (μη αγρίου τύπου)	45.0%

Πίνακας 9.10. Κλινικές και μεταβολικές παράμετροι σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού PvuII 454-397T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	TT (N=27)	TC (N=63)	CC (N=30)	TT/TC (N=90)	TC/CC (N=93)	P*	P†	P‡
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, N(%)	4 (15)	10 (16)	4 (13)	14 (16)	14 (15)	0.985	1.00	1.00
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	27.63±3.83	26.63±3.53	26.77±4.08	26.93±3.62	26.68±3.69	0.525	0.850	0.260
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	127±15	122±14	127±15	124±14	124±14	0.239	0.355	0.291
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	83±8	79±8	82±8	80±8	80±8	0.193	0.496	0.166
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	92±10	93±12	90±10	93±11	92±12	0.336	0.166	0.944
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	224±33	226±32	230±38	225±32	227±34	0.810	0.527	0.734
Τριγλυκερίδια, mg/dl	95±37	108±41	126±59	104±40	114±48	0.047	0.075	0.076
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	64±17	59±11	62±11	60±14	60±11	0.256	0.601	0.185
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	142±30	145±26	143±31	144±27	145±28	0.846	0.850	0.644

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (T επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (T υπολειπόμενο αλληλίο)

Πίνακας 9.1.1. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού RvuIII 454-397T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	TT (N=27)	TC (N=63)	CC (N=30)	T1/TC (N=90)	TC/CC (N=93)	P*	P†	P‡
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	5.77±2.39	5.18±2.35	5.08±3.01	5.35±2.36	5.15±2.56	0.549	0.620	0.278
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	4.18±2.96	3.86±2.85	3.86±3.53	3.96±2.87	3.86±3.07	0.899	0.884	0.644
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου βραχιονίου αρτηρίας – χρόνου από την αντιδραστική υπεραίμια, %	3.19±1.89	2.86±1.87	3.15±2.88	2.96±1.87	2.95±2.23	0.756	0.748	0.631
Νιτροωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	18.62±6.82	17.24±6.05	14.97±4.85	17.61±6.24	16.49±5.74	0.109	0.054	0.165
Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καροτιδίων, mm	0.57±0.06	0.56±0.06	0.56±0.06	0.56±0.06	0.56±0.06	0.864	0.943	0.625
Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καροτιδίων, mm	0.59±0.06	0.58±0.07	0.59±0.08	0.58±0.07	0.58±0.07	0.967	0.809	0.992
Διακυττάρικο μύριο προσκόλλησης – I, ng/ml	653±240	637±224	614±191	641±228	629±213	0.804	0.560	0.630
P-Σελεκτίνη, ng/ml	137±44	134±49	144±33	135±47	137±45	0.604	0.333	0.970
sCD40L, ng/ml	5.45±2.82	6.32±3.76	5.63±2.93	6.06±3.51	6.10±3.51	0.476	0.560	0.402
Υψηλής ευαισθησίας C αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	2.42±2.85	2.09±2.10	2.20±2.43	2.19±2.33	2.12±2.20	0.750	0.867	0.450

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (Τ επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (Τ υπολειπόμενο αλληλίο)

Πίνακας 9.1.2. Κλινικές και μεταβολολικές παράμετροι σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού XbaI 454-351A>G του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	AA (N=39)	AG (N=60)	GG (N=21)	AA/AG (N=99)	AG/GG (N=81)	P*	P†	P‡
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, N(%)	5 (13)	10 (17)	3 (14)	15 (16)	13 (15)	0.679	0.733	0.793
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	27.09±4.03	26.83±3.68	26.68±3.43	26.94±3.80	26.79±3.60	0.913	0.781	0.692
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	125±16	124±14	123±14	125±15	124±14	0.953	0.756	0.896
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	81±9	80±8	80±8	81±8	80±8	0.818	0.865	0.525
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	92±10	93±12	90±12	93±11	92±12	0.629	0.354	0.958
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	227±32	223±34	235±35	225±33	226±34	0.394	0.207	0.926
Τριγλυκερίδια, mg/dl	95±37	110±43	135±58	104±41	116±48	0.007	0.034	0.023
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	62±15	60±12	60±10	61±14	60±12	0.597	0.777	0.309
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	145±28	142±28	148±30	143±28	143±28	0.621	0.458	0.716

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων AA, AG και GG (Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ AA/AG και GG (Α επκρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ AA και AG/GG (Α υπολειπόμενο αλληλίο)

Πίνακας 9.13. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεβιονίης σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού XbaI 454-351A>G του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	AA (N=39)	AG (N=60)	GG (N=21)	AA/AG (N=99)	AG/GG (N=81)	P*	P†	P‡
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχονίου αρτηρίας, %	4.96±2.46	5.49±2.67	5.30±2.27	5.28±2.59	5.44±2.56	0.631	0.973	0.357
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχονίου αρτηρίας, %	3.20±3.14	4.26±3.12	4.33±2.46	3.85±3.15	4.28±2.94	0.216	0.520	0.080
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου βραχονίου αρτηρίας – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία, %	2.66±2.19	3.15±2.18	3.22±2.03	2.96±2.19	3.17±2.13	0.512	0.627	0.249
Νηρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχονίου αρτηρίας, %	18.41±7.41	16.73±5.57	15.40±4.69	17.29±6.25	16.35±5.33	0.232	0.210	0.135
Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτιδίων, mm	0.56±0.06	0.56±0.06	0.56±0.06	0.56±0.06	0.56±0.06	0.986	0.955	0.894
Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτιδίων, mm	0.58±0.06	0.59±0.07	0.59±0.08	0.58±0.07	0.59±0.07	0.951	0.792	0.800
Διακυτταρικό μύριο προσκόλλησης – I, ng/ml	645±231	647±221	581±188	646±224	629±214	0.485	0.228	0.721
P-Σελεκτίνη, ng/ml	140±47	132±46	147±32	135±46	136±43	0.393	0.288	0.636
sCD40L, ng/ml	6.30±3.32	5.92±3.55	5.42±2.99	6.07±3.45	5.79±3.40	0.644	0.433	0.458
Υψηλής ευαισθησίας C αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	1.91±2.45	2.36±2.27	2.22±2.44	2.18±2.34	2.33±2.30	0.654	0.894	0.365

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων AA, AG και GG (Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ AA/AG και GG (Α επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ AA και AG/GG (Α υπολεπτόμενο αλληλίο)

Πίνακας 9.14. Κλινικές και μεταβολικές παράμετροι σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού AluI 1730 A>G του οιστρογονικού υποδοχέα β.

	AA (N=36)	AG (N=60)	GG (N=24)	AA/AG (N=96)	AG/GG (N=84)	P*	P†	P‡
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, N(%)	5 (14)	7 (12)	6 (25)	12 (13)	13 (15)	0.210	0.098	0.506
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	27.33±3.45	27.02±3.86	25.88±3.78	27.14±3.70	26.70±3.85	0.341	0.156	0.411
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	120±12	126±14	128±17	123±14	126±15	0.079	0.216	0.029
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	79±8	81±8	84±8	80±8	82±8	0.080	0.074	0.061
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	90±10	96±12	88±7	93±12	93±11	0.008	0.071	0.071
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	230±33	222±35	232±30	225±34	225±34	0.429	0.406	0.499
Τριγλυκερίδια, mg/dl	114±46	102±39	122±59	107±42	108±46	0.192	0.268	0.503
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	58±10	62±12	62±18	60±11	62±14	0.264	0.612	0.102
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	149±27	140±30	145±23	143±28	142±28	0.300	0.793	0.173

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή **μέση τιμή ± τυπική απόκλιση** εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων AA, AG και GG (Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ AA/AG και GG (Α επκρατές αλλήλιο)

P‡ σύγκριση μεταξύ AA και AG/GG (Α υπολειπόμενο αλλήλιο)

Πίνακας 9.15. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγομηνής σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού AluI 1730 A>G του οιστρογονικού υποδοχέα β.

	AA (N=36)	AG (N=60)	GG (N=24)	AA/AG (N=96)	AG/GG (N=84)	P*	P†	P‡
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχονίου αρτηρίας, %	5.19±1.98	5.20±2.82	5.66±2.55	5.19±2.52	5.33±2.74	0.739	0.436	0.767
60' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχονίου αρτηρίας, %	4.05±2.34	3.95±3.40	3.71±3.11	3.99±3.03	3.88±3.30	0.923	0.709	0.764
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου βραχονίου αρτηρίας – χρόνου από την αντιδραστική υπεραμία, %	3.08±1.63	2.94±2.46	3.06±2.12	2.99±2.17	2.97±2.36	0.947	0.893	0.809
Νιτροωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχονίου αρτηρίας, %	17.65±5.65	16.30±4.83	17.21±8.61	16.83±5.17	16.57±6.15	0.610	0.850	0.413
Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρσιδίων, mm	0.56±0.07	0.56±0.06	0.57±0.05	0.56±0.06	0.56±0.06	0.682	0.414	0.569
Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρσιδίων, mm	0.58±0.08	0.58±0.07	0.59±0.07	0.58±0.07	0.59±0.07	0.830	0.546	0.774
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης – 1, ng/ml	626±195	634±226	649±243	631±214	638±230	0.926	0.724	0.782
P-Σελ.εκτίνη, ng/ml	137±53	139±38	134±47	138±44	137±40	0.904	0.677	0.979
sCD40L, ng/ml	5.49±3.11	6.23±3.53	5.95±3.38	5.95±3.38	6.15±3.47	0.606	0.999	0.343
Υψηλής ευασθησίας C αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	2.04±2.08	2.16±2.42	2.49±2.62	2.12±2.29	2.26±2.47	0.942	0.739	0.985

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων AA, AG και GG (Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ AA/AG και GG (Α.επιφρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ AA και AG/GG (Α υπολειπόμενο αλληλίο)

γονότυπο RvuII CC του οιστρογονικού υποδοχέα α. Οι υπόλοιποι δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής δεν παρουσίαζαν καμιά συσχέτιση με τους μελετώμενους γενετικούς πολυμορφισμούς των οιστρογονικών υποδοχέων α και β.

9.7 Στατιστικά μοντέλα πρόγνωσης των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ανάλυση παλινδρόμησης)

Οι ανεξάρτητες μεταβλητές των προγνωστικών μοντέλων των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής αναφέρονται στους **Πίνακες 9.6 και 9.7** όπως περιγράφεται και παραπάνω. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης γραμμικής παλινδρόμησης και οι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των μελετώμενων δεικτών παρουσιάζονται αναλυτικά στους **Πίνακες 9.16 και 9.17**.

- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της μέγιστης ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής ήταν η βαρύτητα των αγγειοκινητικών ($p < 0.001$) και η χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p = 0.005$).
- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στα 60 δευτερόλεπτα της αντιδραστικής υπεραιμίας ήταν η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p = 0.001$) και η χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p = 0.039$).
- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της ποσοστιαίας μεταβολής του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου-χρόνου της βραχιόνιας αρτηρίας κατά την αντιδραστική υπεραιμία ήταν η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p = 0.001$) και η χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p = 0.013$).

- ✓ Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της νιτρωδο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας ήταν η βασική διάμετρος ηρεμίας της βραχιόνιας αρτηρίας ($p < 0.001$).
- ✓ Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της μέσης τιμής του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων ήταν η συστολική αρτηριακή πίεση ($p = 0.004$).
- ✓ Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της μέγιστης τιμής του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων ήταν η ηλικία ($p = 0.004$).

Πίνακας 9.16. Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες δεικτών αγγειακής λειτουργίας σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Προγνωστικοί παράγοντες	Συντελεστής B	ΔΕ 95%	Κριτήριο p	R ²
<i>Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας (R² 0.236, p<0.001)</i>				
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.714	-1.016, -0.412	<0.001	0.184
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη, mg/dl	0.046	0.014, 0.078	0.005	0.052
<i>60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας (R² 0.145, p<0.001)</i>				
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.682	-1.070, -0.294	0.001	0.113
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη, mg/dl	0.043	0.002, 0.085	0.039	0.032
<i>Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου- χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία (R² 0.165, p<0.001)</i>				
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	-0.486	-0.757, -0.214	0.001	0.119
Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη, mg/dl	0.037	0.008, 0.065	0.013	0.046
<i>Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας (R² 0.262, p<0.001)</i>				
Βασική διάμετρος βραχιονίου αρτηρίας, mm	-7.003	-9.400, -4.606	<0.001	0.262
<i>Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (R² 0.069, p=0.004)</i>				
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	0.001	0.000, 0.002	0.004	0.069
<i>Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (R² 0.069, p=0.004)</i>				
Ln(ηλικία)	0.229	0.076, 0.383	0.004	0.069
Συνοπτικές σημειώσεις: ΔΕ - διάστημα εμπιστοσύνης, Ln – φυσικός λογάριθμος				

- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των επιπέδων του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 ήταν η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p=0.001$), ο δείκτης μάζας σώματος ($p=0.013$) και ο χρόνος από την τελευταία έμμηνο ρύση ($p=0.046$).
- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των επιπέδων της P-Σελεκτίνης ήταν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων ($p=0.021$) και η βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p=0.034$).
- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των επιπέδων του μορίου sCD40L ήταν η συστολική αρτηριακή πίεση ($p=0.019$) και τα επίπεδα θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p=0.026$).
- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν ο δείκτης μάζας σώματος ($p<0.001$), τα επίπεδα της θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p=0.031$) και των τριγλυκεριδίων ($p=0.041$).

Πίνακας 9.17. Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες δεικτών αγγειακής φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Προγνωστικοί παράγοντες	Συντελεστής B	ΔΕ 95%	Κριτήριο p	R ²
<i>Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 (R² 0.196, p<0.001)</i>				
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	48.21	20.65, 75.78	0.001	0.128
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	12.80	2.81, 22.79	0.013	0.040
Ln(χρόνος τελευταίας εμμήνου ρύσεως)	-35.85	-71.10, -0.59	0.046	0.027
<i>P-Σελεκτίνη (R² 0.083, p=0.007)</i>				
Τριγλυκερίδια, mg/dl	0.200	0.031, 0.370	0.021	0.045
Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων	6.242	0.490, 11.994	0.034	0.038
<i>sCD40L (R² 0.085, p=0.006)</i>				
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	0.050	0.009, 0.092	0.019	0.044
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	0.027	0.003, 0.051	0.026	0.041
<i>Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (R² 0.345, p<0.001)</i>				
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	0.124	0.080, 0.169	<0.001	0.291
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	-0.007	-0.013, -0.001	0.031	0.030
Τριγλυκερίδια, mg/dl	0.004	0.000, 0.007	0.041	0.024
Συνομμεύσεις: ΔΕ - διάστημα εμπιστοσύνης, Ln – φυσικός λογάριθμος				

9.8 Μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής ανάλογα με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Η σχέση της βαρύτητας των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων με δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες διερευνήθηκε περαιτέρω για τον καθορισμό της μεταβλητότητας των μελετώμενων δεικτών ανάλογα με τη βαρύτητα των συμπτωμάτων. Βρέθηκε ότι οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες εμφάνιζαν διαφορές στα επίπεδα της μέγιστης ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας ($p < 0.001$), της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής βραχιόνιας αρτηρίας στα 60 δευτερόλεπτα μετά την αντιδραστική υπεραιμία ($p = 0.005$), της ποσοστιαίας μεταβολής του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου-χρόνου της βραχιόνιας αρτηρίας κατά την αντιδραστική υπεραιμία ($p = 0.004$), του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 ($p = 0.001$), του μορίου sCD40L ($p = 0.005$) και της P-Σελεκτίνης ($p = 0.016$) ανάλογα με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων (Πίνακας 9.18). Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσίαζαν επιδείνωση όλων αυτών των δεικτών όσο αυξάνονταν η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων. Η εκ των υστέρων ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτών με τη δοκιμασία Bonferoni έδειξε ότι:

- ✓ Η μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας παρουσίαζε μια ξεκάθαρη στατιστικά σημαντική μείωση σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά (μέτρια/σοβαρά πολύ σοβαρά) σε σύγκριση με καθόλου/ήπια αγγειοκινητικά συμπτώματα (Πίνακας 9.18).
- ✓ Η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας στα 60'' μετά την αντιδραστική υπεραιμία καθώς και η μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία παρουσίαζαν επίσης μια τάση να μειώνονται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά σε σύγκριση με καθόλου/ήπια αγγειοκινητικά συμπτώματα. Ωστόσο διέφεραν στατιστικά σημαντικά μόνο μεταξύ γυναικών με πολύ σοβαρά και χωρίς αγγειοκινητικά συμπτώματα.

γαιοκινητικά συμπτώματα ($p=0.003$ και $p=0.004$ αντίστοιχα για τους δυο δείκτες) (Πίνακας 9.18).

- ✓ Το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, η P-Σελεκτίνη και το μόριο sCD40L εμφάνιζαν μια τάση να αυξάνονται σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχαν αγγειοκινητικά συμπτώματα σε σύγκριση με γυναίκες χωρίς συμπτώματα (Πίνακας 9.18).

Στην **Εικόνα 9.2Α-ΣΤ** φαίνονται και οι διαφορές στους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ των υποομάδων εμμηνοπαυσιακών γυναικών ανάλογα με τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων (όπως προέκυψαν από την παραπάνω ανάλυση) και των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Οι δείκτες ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (μέγιστη και στα 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και μεταβολή εμβαδού καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία) ήταν αυξημένοι σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς ή με ήπια αγγειοκινητικά συμπτώματα σε σχέση με γυναίκες με κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα ($p<0.005$ για όλα). Επιπλέον, οι δείκτες αυτοί ήταν αυξημένοι σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σύγκριση τόσο με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς/ήπια όσο και κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα ($p<0.005$ για την 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και μεταβολή εμβαδού καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία) (**Εικόνα 9.2Α-Γ**). Η μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών χωρίς ή με ήπια αγγειοκινητικά συμπτώματα ($p=0.181$) (**Εικόνα 9.2Γ**). Το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 δεν παρουσίαζε καμιά διαφορά μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών με αγγειοκινητικά συμπτώματα ($p=1.0$), ενώ η υποομάδα εμμηνοπαυσιακών γυναικών χωρίς αγγειοκινητικά συμπτώματα είχε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση και με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αλλά και με τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με συμπτώματα ($p<0.05$ και για τις δυο) (**Εικόνα 9.2Δ**). Η P-Σελεκτίνη και το μόριο sCD40L δεν εμφάνιζαν καμιά διαφορά μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών χωρίς αγγειοκινητικά συμπτώματα, ενώ και οι δυο αυτές υποομάδες είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα των μορίων αυτών σε σχέση με τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αγγειοκινητικά συμπτώματα (**Εικόνα 9.2Ε-ΣΤ**).

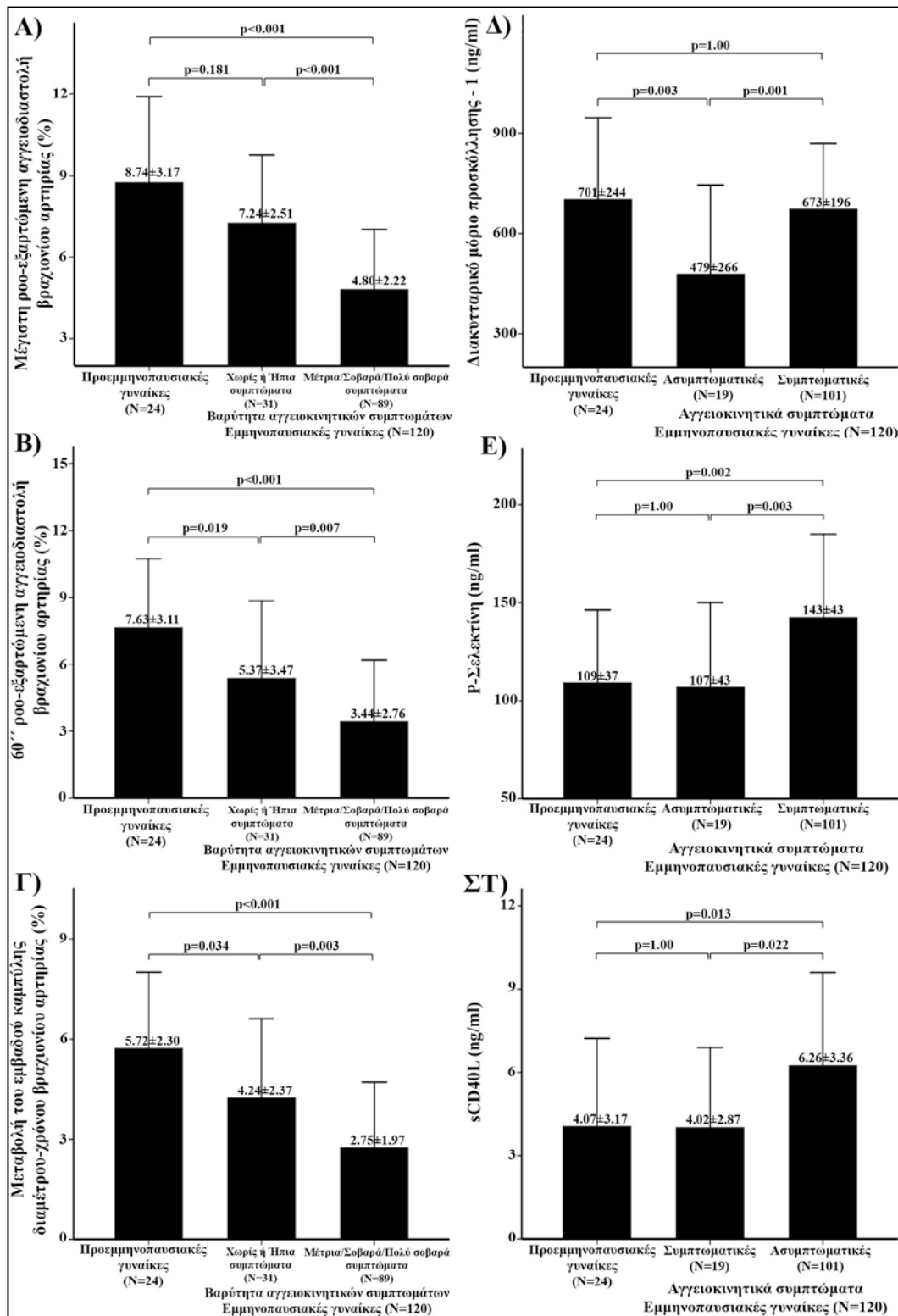
Πίνακας 9.18. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής ανάλογα με την παρουσία και τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

	<i>Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων</i>				P	
	Καθόλου (N=19)	Ήπια (N=12)	Μέτρια (N=34)	Πολύ σοβαρά (N=29)		
Μέγιστη 90-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	7.06±2.65	7.53±2.37	5.29±2.12 [†]	4.88±2.52 ^{*†}	4.16±1.93 ^{*†}	<0.001
60'' 90-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	5.59±3.64	5.03±3.31	3.99±3.81	3.88±2.86	2.39±2.37*	0.005
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την αντιδραστική υπεραμία στη βραχιόνια αρτηρία, %	4.39±2.41	4.00±2.38	3.15±1.87	2.90±2.21	2.15±1.76*	0.004
Νιτροϋδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	15.48±4.94	19.96±9.46	17.37±5.44	15.26±4.87	17.51±6.13	0.241
Μέσο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καροτιδίων, mm	0.58±0.05	0.53±0.05	0.55±0.06	0.57±0.06	0.57±0.07	0.105
Μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καροτιδίων, mm	0.61±0.05	0.55±0.07	0.57±0.07	0.59±0.06	0.59±0.08	0.213
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	479±266	638±205	639±166	648±194	747±214*	0.001
P-Σελεκτίνη, ng/ml	107±43	149±44	145±47*	133±37	145±41*	0.016
sCD40L, ng/ml	4.02±2.87	7.15±4.40	7.32±3.31*	5.69±3.05	5.24±2.94	0.005
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	1.72±1.84	2.38±1.82	1.91±1.80	2.94±3.26	1.85±2.19	0.479

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

*p<0.05 σε σύγκριση με γυναίκες χωρίς συμπτώματα (εκ των υστέρων ανάλυση με δοκιμασία Bonferroni)

†p<0.05 σε σύγκριση με γυναίκες με ήπια συμπτώματα (εκ των υστέρων ανάλυση με δοκιμασία Bonferroni)



Εικόνα 9.2. Σύγκριση υπερηχογραφικών δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας και δεικτών αγγειακής φλεγμονής μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών ανάλογα με την παρουσία ή/και τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων.

Τα ραβδογράμματα αναπαριστούν τις μέσες τιμές των μεταβλητών και οι γραμμές σφάλματος μια τυπική απόκλιση.

Τέλος, οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αγγειοκινητικά συμπτώματα παρουσίαζαν χαμηλότερα επίπεδα υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης (60 ± 13 έναντι 67 ± 13 mg/dl, $p=0.029$) και υψηλότερα επίπεδα οιστραδιόλης (16.6 ± 5.5 έναντι 13.7 ± 5.5 pg/ml, $p=0.046$) σε σχέση με γυναίκες που ήταν ασυμπτωματικές. Δεν υπήρχε καμιά διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων ως προς το δείκτη μάζας σώματος, τις τιμές της αρτηριακής πίεσης και των άλλων λιπιδίων.

9.9 Σύνοψη αποτελεσμάτων βασικής μελέτης

Υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης (ηλικίας <55 ετών και <3 έτη στην εμμηνόπαυση), σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, παρουσιάζουν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, όπως αυτή εκτιμάται από τη μειωμένη ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία (μέγιστη και 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και ποσοστιαία μεταβολή εμβαδού καμπύλης διαμέτρου - χρόνου στη βραχιόνια αρτηρία κατά την υπεραιμία). Αντιθέτως δεν παρατηρείται καμιά διαφορά στο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών κωρωτίδων μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Επιπλέον οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν αύξηση δεικτών αγγειακής φλεγμονής όπως η P-Σελεκτίνη και το μόριο sCD40L. Τα αγγειοκινητικά συμπτώματα (εξάψεις και εφιδρώσεις) είναι τα πιο συχνά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα και αποτελούν σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά συμπτώματα (τουλάχιστον μέτριας βαρύτητας) παρουσίαζαν μειωμένη ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή σε σχέση με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ήπια ή καθόλου συμπτώματα αλλά και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ η ομάδα των γυναικών με ήπια/καθόλου αγγειοκινητικά συμπτώματα δεν διέφερε σημαντικά από τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ως προς τους δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Επιπροσθέτως η παρουσία έστω και ήπιων αγγειοκινητικών συμπτωμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζονταν με αυξημένα επίπεδα της P-Σελεκτίνης και του μορίου sCD40L σε σχέση με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς συμπτώματα ή προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς αγγειοκινητικά συμπτώματα δεν παρουσίαζαν διαφορές στα επίπεδα των δεικτών αυτών σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Οι μελετώμενοι γενετικοί πολυμορφισμοί

των οιστρογονικών υποδοχέων α και β δεν σχετίζονταν με τα επίπεδα δεικτών αγγειακής λειτουργία και φλεγμονής στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες αλλά σχετίζονταν μόνο με τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και των τριγλυκεριδίων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10^ο

Αποτελέσματα – Μελέτη Παρέμβασης

(Υπομελέτη 2)

10.1 Γενικά

Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα οι οποίες συναίνεσαν σε 3μηνη παρακολούθηση (N=84) ολοκλήρωσαν το πρωτόκολλο της μελέτης όπως προβλέπονταν. Στις γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία, η σωστή λήψη της θεραπείας ελέγχθηκε με την καταμέτρηση των υπολειπόμενων διαδερμικών επιθεμάτων στο τέλος της 3μηνης παρακολούθησης. Καμιά από τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν θεραπεία δεν ανέφερε μεταβολές στους μελετώμενους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου ή την έναρξη λήψης οποιασδήποτε φαρμακευτικής αγωγής. Στην ομάδα των εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ορμονική θεραπεία δεν παρατηρήθηκε καμιά παρενέργεια σοβαρή ή έστω και μέτριας βαρύτητας. Περίπου το 30% των γυναικών που έλαβαν ορμονική θεραπεία ανέφεραν τοπική ήπια δερματίτιδα στο σημείο επίκόλλησης του επιθέματος ορμονικής θεραπείας, η οποία όμως υποχωρούσε αυτόματα (εντός 48ώρου) μετά την αλλαγή θέσης στο νέο επίθεμα. Τέλος, σε 5 (12.5%) από τις γυναίκες που έλαβαν θεραπεία η χορήγηση προγεστερόνης από το στόμα προκάλεσε ήπια γαστρεντερικά ενοχλήματα, τα οποία δεν οδήγησαν σε διακοπή της θεραπείας.

10.2 Σύγκριση ομάδων εμμηνοπαυσιακών γυναικών πριν την έναρξη της ορμονικής θεραπείας (Πίνακες 10.1 έως 10.3)

Οι δύο ομάδες των εμμηνοπαυσιακών γυναικών δεν παρουσίαζαν διαφορές ως προς τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής πριν την έναρξη της ορμονικής

θεραπείας. Οι γυναίκες που δεν έλαβαν θεραπεία εμφάνιζαν λίγο μεγαλύτερη ηλικία (περίπου 1.5 έτη, $p=0.065$) και ήταν πιο συχνό το αλληλόμορφο C του πολυμορφισμού *PvuII* 454-397T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α ($p=0.030$). Όπως θα αναφερθεί και παρακάτω η σύγκριση των αποτελεσμάτων των δυο παρεμβάσεων (με ή χωρίς ορμονική θεραπεία) σταθμίστηκε ως προς αυτές τις διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων πριν την έναρξη της θεραπείας.

Πίνακας 10.1. Δημογραφικά, κλινικά και γονοτυπικά χαρακτηριστικά εμμηνόπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία

	Ορμονική Θεραπεία (N=40)	Χωρίς ορμονική Θεραπεία (N=44)	Κριτήριο p
Ηλικία, έτη	48.1 ± 4.0	49.6 ± 3.3	0.065
Τελευταία έμμηνος ρύση, μήνες	12.9 ± 11.8	10.8 ± 10.6	0.378
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, N (%)	6 (15.0)	6 (13.6)	0.858
Κάπνισμα, N (%)			
Ποτέ	28 (70.0)	37 (84.1)	
Πρώην	4 (10.0)	1 (2.3)	
Νυν	8 (20.0)	6 (13.6)	0.207
Άσκηση, N (%)			
Καθόλου	19 (47.5)	18 (40.9)	
<5 ημέρες/εβδομάδα	17 (42.5)	22 (50.0)	
Καθημερινή	4 (10.0)	4 (9.1)	0.787
Ιστορικό ορμονικής θεραπείας, N (%)	6 (15.0)	3 (6.8)	0.150
Αγγειοκινητικά συμπτώματα, N(%)			
Μέτρια	15 (37.5)	20 (45.5)	
Σοβαρά	10 (25.0)	13 (29.5)	
Πολύ σοβαρά	15 (37.5)	11 (25.0)	0.464
<i>PvuII</i> 454-397T>C, N(%)			
TT	12 (30.0)	5 (11.4)	
TC	19 (47.5)	28 (63.6)	
CC	9 (22.5)	11 (25.0)	0.082
<i>XbaI</i> 454-351A>G, N(%)			
AA	14 (35.0)	11 (25)	
AG	17 (42.5)	23 (52.3)	
GG	9 (22.5)	10 (22.7)	0.345
<i>AluI</i> 1730A>G, N(%)			0.439

AA	15 (37.5)	16 (36.4)
AG	16 (40.0)	20 (45.5)
GG	9 (22.5)	8 (18.2)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση* εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

Πίνακας 10.2. Μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία

	Ορμονική Θεραπεία (N=40)	Χωρίς ορμονική Θεραπεία (N=44)	Κριτήριο P
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	26.27±3.37	27.28±4.14	0.226
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	123±14	123±16	0.945
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	82±8	79±8	0.183
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	91±11	92±10	0.646
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	231±31	226±35	0.534
Τριγλυκερίδια, mg/dl	105±41	122±51	0.101
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	61±16	58±11	0.306
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	149±27	145±30	0.476
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	77.6±26.1	68.1±24.5	0.090
Οιστραδιόλη, pg/ml	16.8±5.3	16.9±5.8	0.942

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

Πίνακας 10.3. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία

	Ορμονική Θεραπεία (N=40)	Χωρίς ορμονική Θεραπεία (N=44)	Κριτήριο P
Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας, mm	3.71±0.48	3.74±0.45	0.823
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	4.95±2.41	5.06±2.31	0.831
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιό- νιας αρτηρίας, %	3.44±2.86	3.85±2.70	0.494
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας στην υπεραμία, %	386±259	469±264	0.153

Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, %	2.85±2.12	3.00±2.06	0.748
Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	16.33±6.14	16.99±4.75	0.600
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών, %	-9±61	2±66	0.214
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	691±180	648±205	0.318
P-Σελεκτίνη, ng/ml	143±34	143±52	0.994
sCD40L, ng/ml	6.30±3.28	6.11±3.47	0.802
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	2.13±2.33	2.12±2.10	0.629

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

10.3 Επανάλεγχος εμμηνοπαυσιακών γυναικών που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία (Πίνακες 10.4 και 10.5)

Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία δεν παρουσίασαν καμιά στατιστικά σημαντική μεταβολή ούτε στις μελετώμενες μεταβολικές, ορμονικές παραμέτρους ούτε και στους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων επίσης δεν άλλαξε στατιστικά σημαντικά στις γυναίκες αυτές κατά τη διάρκεια των 3 μηνών παρακολούθησης (p=0.446).

Πίνακας 10.4. Κλινικές, μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία (N=44) στην αρχική επίσκεψη και μετά από 3 μήνες.			
	Αρχικές μετρήσεις	Επανάλεγχος 3 μήνες	Κριτήριο p
Αγγειοκινητικά συμπτώματα, N(%)			
Ήπια	0 (0.0)	4 (9.1)	
Μέτρια	20 (45.5)	11 (25.0)	
Σοβαρά	13 (29.5)	14 (31.8)	
Πολύ σοβαρά	11 (25.0)	15 (34.1)	0.446
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	27.28±4.14	27.34±4.12	0.558

Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	123±16	125±13	0.167
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	79±8	79±7	0.675
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	92±10	93±10	0.107
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	226±35	230±37	0.246
Τριγλυκερίδια, mg/dl	122±51	124±48	0.496
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	58±11	57±10	0.306
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	145±30	148±30	0.237
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	68.1±24.5	70.1±24.5	0.161
Οιστραδιόλη, pg/ml	16.9±5.8	16.7±5.4	0.500

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση* εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

Πίνακας 10.5. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία (N=44) κατά την αρχική επίσκεψη και μετά από 3 μήνες παρακολούθηση.

	Αρχικές μετρήσεις	Επανελέγχος 3 μήνες	Κριτήριο p
Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας, mm	3.74±0.45	3.73±0.45	0.759
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	5.06±2.31	4.91±2.49	0.720
60΄ ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	3.85±2.70	3.42±2.93	0.394
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας στην υπεραιμία, %	469±264	445±219	0.665
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, %	3.00±2.06	2.61±2.01	0.285
Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	16.99±4.75	16.54±4.69	0.534
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών, %	2±66	-2±63	0.718
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	648±205	666±157	0.520
P-Σελεκτίνη, ng/ml	143±52	136±44	0.463
sCD40L, ng/ml	6.11±3.47	6.46±3.84	0.802

Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	2.12±2.10	2.49±2.22	0.587
Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.			

10.4 Επανάλεγχος εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ορμονική θεραπεία (Πίνακες 10.6 και 10.7)

Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες μείωσε τη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων ($p < 0.001$) στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, καθώς >75% των γυναικών δεν παρουσίαζαν καθόλου αγγειοκινητικά συμπτώματα, ενώ μόνο μια γυναίκα εξακολούθησε να αναφέρει μέτριας βαρύτητας εξάψεις και εφιδρώσεις. Επιπλέον, μείωσε τα επίπεδα της συστολικής (περίπου 3.5%, $p = 0.03$) και διαστολικής (περίπου 3.5%, $p = 0.015$) αρτηριακής πίεσης, της ολικής (περίπου 5.5%, $p = 0.035$) και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (περίπου 11%, $p = 0.005$) χοληστερόλης και της θυλακιοτρόπου ορμόνης ($p < 0.001$), ενώ αύξησε τα επίπεδα της οιστραδιόλης ορού ($p < 0.001$). Η ορμονική θεραπεία προκάλεσε μια αύξηση της ενδοθηλίο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (μέγιστη και στα 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την υπεραϊμία στη βραχιόνια αρτηρία κατά 53%, 76% και 64% αντίστοιχα) ($p < 0.001$ για όλα), ενώ παράλληλα μείωσε τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 (κατά 27%, $p < 0.001$), του μορίου sCD40L (κατά 43%, $p < 0.001$) και της P-Σελεκτίνης (κατά 28%, $p < 0.001$). Καμιά μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στη νιτρωδοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και την υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη.

Πίνακας 10.6. Κλινικές, μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία (N=40) στην αρχική επίσκεψη και μετά από 3μήνες.

	Αρχικές μετρήσεις	Επανάλεγχος 3 μήνες	Κριτήριο p
Αγγειοκινητικά συμπτώματα, N(%)			
Καθόλου	0 (0.0)	31 (77.5)	
Ήπια	0 (0.0)	8 (20.0)	
Μέτρια	15 (37.5)	1 (2.5)	
Σοβαρά	10 (25.0)	0 (0.0)	
Πολύ σοβαρά	15 (37.5)	0 (0.0)	<0.001

Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	26.27±3.37	26.38±3.30	0.567
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	123±14	119±16	0.030
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	82±8	79±8	0.015
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	91±11	89±9	0.197
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	231±31	218±32	0.035
Τριγλυκερίδια, mg/dl	105±41	117±60	0.134
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	61±16	62±19	0.599
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	149±27	133±25	0.005
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	77.6±26.1	45.1±17.6	<0.001
Οιστραδιόλη, pg/ml	16.8±5.3	79.6±41.8	<0.001

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση* εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

Πίνακας 10.7. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία (N=40) κατά την αρχική επίσκεψη και μετά από 3 μήνες παρακολούθησης.

	Αρχικές μετρήσεις	Επανάλεγχος 3 μήνες	Κριτήριο p
Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας, mm	3.71±0.48	3.71±0.43	0.959
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	4.95±2.41	7.59±2.63	<0.001
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	3.44±2.86	6.06±2.73	<0.001
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας στην υπεραιμία, %	386±259	413±282	0.656
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, %	2.85±2.12	4.67±2.13	<0.001
Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	16.33±6.14	15.81±4.59	0.518
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών, %	-9±61	-24±42	0.230
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	691±180	505±317	<0.001
P-Σελεκτίνη, ng/ml	143±34	103±47	<0.001

sCD40L, ng/ml	6.30±3.28	3.57±2.34	<0.001
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	2.13±2.33	2.67±2.83	0.116

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

10.5 Σύγκριση των αλλαγών σε μεταβολικές και ορμονικές παραμέτρους και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία

Η απευθείας σύγκριση των μεταβολών στις διάφορες μελετώμενες παραμέτρους μεταξύ των εμμηνοπαυσιακών γυναικών που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία έγινε με τη χρήση ανάλυσης διακύμανσης επαναληπτικών μετρήσεων (Πίνακες 10.8 και 10.9) και τη στάθμιση ως προς τις διαφορές των δυο ομάδων κατά την αρχική επίσκεψη (παράγραφος 10.2). Οι γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία σε σύγκριση με τις γυναίκες που δεν έλαβαν θεραπεία παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αύξηση στα επίπεδα οιστραδιόλης ($p < 0.001$), τη μέγιστη ($p = 0.001$) και στα 60 δευτερόλεπτα ($p < 0.001$) ροοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και την ποσοστιαία μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου ($p < 0.001$) από την αντιδραστική υπεραϊμία στη βραχιόνια αρτηρία, ενώ εμφάνισαν στατιστικά σημαντική μείωση στη θυλακιοτρόπο ορμόνη ($p < 0.001$), το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 ($p < 0.001$) και το μόριο sCD40L ($p = 0.007$).

Πίνακας 10.8. Σύγκριση των μεταβολών (Δ) σε μεταβολικές και ορμονικές παραμέτρους σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία.

	Ορμονική Θεραπεία (N=40)	Χωρίς ορμονική Θεραπεία (N=44)	RMANOVA Κριτήριο p
Δ Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	0.11±1.23	0.06±0.62	0.713
Δ Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-5±13	2±10	0.407
Δ Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-3±8	0±5	0.269
Δ Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	-2±9	1±4	0.045

Δ Ολική χοληστερόλη, mg/dl	-12±36	4±24	0.385
Δ Τριγλυκερίδια, mg/dl	12±49	3±24	0.896
Δ Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	1±10	-1±5	0.322
Δ Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	-16±33	4±21	0.196
Δ Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	-32.5±21.8	2.1±9.6	<0.001
Δ Οιστραδιόλη, pg/ml	62.9±41.4	-0.4±3.9	<0.001

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

Συντομεύσεις: RMANOVA, ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures ANOVA).

Τα αποτελέσματα RMANOVA που παρουσιάζονται προέρχονται μετά από στάθμιση για τις διαφορές των δυο ομάδων στην ηλικία και τη συχνότητα των γονοτύπων του πολυμορφισμού PvuII T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α.

Πίνακας 10.9. Σύγκριση των μεταβολών (Δ) σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία.

	Ορμονική Θεραπεία (N=40)	Χωρίς ορμονική Θεραπεία (N=44)	RMANOVA Κριτήριο p
Δ Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας, mm	0.00±0.12	-0.01±0.16	0.881
Δ Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	2.64±3.93	-0.16±2.85	0.001
Δ 60' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	2.62±3.77	-0.43±3.32	<0.001
Δ Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας στην υπεραιμία, %	27±376	-21±326	0.379
Δ Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, %	1.82±2.78	-0.39±2.38	<0.001
Δ Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	-0.52±4.99	-0.45±4.50	0.959
Δ Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών, %	-15±69	-4±64	0.421
Δ Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	-186±219	18±181	<0.001
Δ P-Σελεκτίνη, ng/ml	-39±50	-7±62	0.500

Δ sCD40L, ng/ml	-2.74±3.10	0.35±2.87	0.007
Δ Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	0.53±2.52	0.37±2.04	0.242

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.
 Συντομεύσεις: RMANOVA, ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures ANOVA).
 Τα αποτελέσματα RMANOVA που παρουσιάζονται προέρχονται μετά από στάθμιση για τις διαφορές των δυο ομάδων στην ηλικία και τη συχνότητα των γονοτύπων του πολυμορφισμού PvuII T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α.

10.6 Σύγκριση μεταβολικών και ορμονικών παραμέτρων και δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας

Οι μικρές διαφορές στην αρτηριακή πίεση, την ολική και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών κατά την αρχική επίσκεψη (**Πίνακας 9.3**) εξαφανίστηκαν μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (**Πίνακας 10.10**). Παρά το γεγονός ότι η οιστραδιόλη ορού δεν διέφερε πλέον σημαντικά μεταξύ εμμηνοπαυσιακών γυναικών μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών, η θυλακιοτρόπος ορμόνη παρέμενε υψηλότερη στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($p < 0.001$) (**Πίνακας 10.10**). Σε σύγκριση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι γυναίκες που έλαβαν ορμονική θεραπεία για 3 μήνες δεν εμφάνιζαν πλέον στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή ($p = 0.122$), την ποσοστιαία μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου - χρόνου από την υπεραϊμική αντίδραση της βραχιόνιας αρτηρίας ($p = 0.069$), τα επίπεδα του μορίου sCD40L ($p = 0.480$) και την P-Σελεκτίνη ($p = 0.601$). Αντιθέτως, στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες εξακολουθούσε να παραμένει σημαντικά μειωμένη η ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας στα 60 δευτερόλεπτα ($p = 0.039$). Τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 μειώθηκαν με την ορμονική θεραπεία σε επίπεδα χαμηλότερα των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών ($p = 0.013$) (**Πίνακας 10.11**).

Πίνακας 10.10. Μεταβολικές και ορμονικές παράμετροι στις προεμμηνοπαυσιακές και εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας.

	Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες 3 μήνες ορμονικής θεραπείας (N=40)	Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24)	Κριτήριο P
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	26.38±3.30	27.93±4.58	0.157
Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	119±16	119±10	0.969
Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	79±8	76±8	0.269
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	89±9	94±14	0.091
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	218±32	213±30	0.504
Τριγλυκερίδια, mg/dl	117±60	100±34	0.207
Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	62±19	60±11	0.736
Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	133±25	133±28	0.983
Θυλακιοτρόπος ορμόνη, IU/L	45.1±17.6	11.4±6.8	<0.001
Οιστραδιόλη, pg/ml	79.6±41.8	84.7±76.5	0.732

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

Πίνακας 10.11. Δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε προεμμηνοπαυσιακές και εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας.

	Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες 3 μήνες ορμονικής θεραπείας (N=40)	Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=24)	Κριτήριο P
Βασική διάμετρος βραχιόνιας αρτηρίας, mm	3.71±0.43	3.63±0.31	0.383
Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	7.59±2.63	8.74±3.17	0.122
60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας, %	6.06±2.73	7.63±3.11	0.039

Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας στην υπεραιμία, %	413±282	443±263	0.724
Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου– χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, %	4.67±2.13	5.72±2.30	0.069
Νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιόνιας αρτηρίας, %	15.81±4.59	17.92±5.64	0.123
Μεταβολή ροής βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτρωδών, %	-24±42	-10±38	0.601
Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	505±317	701±244	0.013
P-Σελεκτίνη, ng/ml	103±47	109±37	0.601
sCD40L, ng/ml	3.57±2.34	4.07±3.17	0.480
Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	2.67±2.83	2.76±2.69	0.890

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

10.7 Επίδραση γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων στις μεταβολές που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε κλινικές και μεταβολικές παραμέτρους και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής

Οι μεταβολές που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε κλινικές και μεταβολικές παραμέτρους και σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε σχέση με το γονότυπο των γυναικών (ως προς τους μελετώμενους γενετικούς πολυμορφισμούς των οιστρογονικών υποδοχέων) παρουσιάζονται στους **Πίνακες 10.12 έως 10.17**. Η ανάλυση έγινε τόσο για την περίπτωση ισοδυναμίας των δυο αλληλίων, όσο και για τις περιπτώσεις επικρατούς ή υπολειπόμενου αλληλίου σε κάθε πολυμορφισμό.

Η παρουσία του PvuII C αλληλίου σε σύγκριση με το γονότυπο PvuII TT στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α σχετίζονταν με μείωση (έναντι αύξησης) της συστολική αρτηριακής πίεσης ($p=0.015$) μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας. Από την άλλη το

αλληλίο PvuII T (σε σύγκριση με το γονότυπο PvuII CC) του ίδιου πολυμορφισμού σχετίζονταν με μείωση της νιτρωδο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία ($p=0.022$) (**Εικόνα 10.1A**) και του μορίου sCD40L (οριακά $p=0.053$) (**Εικόνα 10.1B**) (**Πίνακες 10.12 και 10.13**). Η παρουσία του αλληλίου XbaI A σε σύγκριση με το γονότυπο XbaI GG στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α σχετίζονταν με μικρότερη βελτίωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης ($p=0.037$) και μείωση (έναντι αύξησης) του μορίου sCD40L ($p<0.001$) (**Εικόνα 10.1Γ**) μετά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (**Πίνακες 10.14 και 10.15**). Τέλος, η παρουσία του αλληλίου AluI A σε σύγκριση με το γονότυπο AluI GG στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β σχετίζονταν με μείωση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ($p=0.008$) και αύξηση της μέγιστης ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής ($p=0.015$) (**Εικόνα 10.1Δ**), της ποσοστιαίας μεταβολής του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου-χρόνου στη βραχιόνια αρτηρία κατά την υπεραϊμία ($p=0.020$) (**Εικόνα 10.1Ε**) αλλά και της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ($p=0.019$) (**Εικόνα 10.1ΣΤ**) μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (**Πίνακες 10.16 και 10.17**).

10.8 Στατιστικά μοντέλα πρόγνωσης των μεταβολών των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μετά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (ανάλυση παλινδρόμησης)

Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση προγνωστικών παραγόντων των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής, οι οποίοι μεταβλήθηκαν μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (**Πίνακας 10.7**). Οι ανεξάρτητες μεταβλητές που μπήκαν στα μοντέλα ήταν 1) η βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων κατά την αρχική επίσκεψη και η μεταβολή της βαρύτητας των συμπτωμάτων αυτών από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας, 2) οι μεταβολές των ορμονικών και μεταβολικών παραμέτρων που άλλαξαν σημαντικά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (**Πίνακας 10.6**) και 3) οι μελετώμενοι πολυμορφισμοί των οιστρογονικών υποδοχέων.

Πίνακας 10.12. Μεταβολές (Δ) που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε κλινικές και μεταβολικές παραμέτρους σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού PvuII 454-397T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	TT (N=12)	TC (N=19)	CC (N=9)	TT/TC (N=31)	TC/CC (N=28)	P*	P†	P‡
Δ Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων [§]	-3±1	-3±1	-3±1	-3±1	-3±1	0.486	0.864	0.291
Δ Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	0.51±0.73	0.15±1.06	-0.71±1.64	0.28±0.95	-0.14±1.32	0.151	0.058	0.308
Δ Σύστημα αρτηριακή πίεση, mmHg	3±11	-8±13	-8±13	-4±13	-8±13	0.055	0.389	0.015
Δ Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	0±8	-4±7	-7±8	-2±8	-5±7	0.139	0.106	0.100
Δ Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	-2±3	-5±11	1±5	-4±9	-3±10	0.230	0.150	0.724
Δ Ολική χοληστερόλη, mg/dl	-1.5±32	-9±35	-24±45	-11±33	-14±38	0.607	0.354	0.972
Δ Τριγλυκερίδια, mg/dl	23±28	-5±45	16±54	5±41	2±48	0.201	0.555	0.174
Δ Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	4±13	1±9	-2±11	2±11	0±10	0.524	0.379	0.320
Δ Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	-2.3±36	-9±32	-2.5±35	-14±33	-14±33	0.377	0.384	0.480

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (T επικρατές αλληλίου)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (T υπολειπόμενο αλληλίου)

[§]Η μεταβολή στη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων εκτιμήθηκε με βάση πόσες βαθμίδες στην κλίμακα βαρύτητας (καθόλου έως πολύ σοβαρά) υποχωρούσαν τα συμπτώματα μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας.

Δ, Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.

Πίνακας 10.13. Μεταβολές (Δ) που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού PvuII 454-397T>C του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	TT (N=12)	TC (N=19)	CC (N=9)	TT/TC (N=31)	TC/CC (N=28)	P*	P†	P‡
Δ Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχίονας αρτηρίας, %	2.99±4.15	2.76±3.76	3.17±3.59	2.85±3.84	2.90±3.64	0.965	0.826	0.946
Δ 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχίονας αρτηρίας, %	2.47±4.57	2.24±2.86	4.65±3.44	2.33±3.53	3.04±3.22	0.242	0.091	0.662
Δ Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία στη βραχίονα αρτηρία, %	1.90±2.71	2.07±2.37	2.32±3.13	2.01±2.45	2.16±2.59	0.942	0.759	0.791
Δ Προδρο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχίονας αρτηρίας, %	-0.61±4.53	-2.05±5.26	2.69±3.11	-1.54±4.98	-0.47±5.12	0.057	0.022	0.938
Δ Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	-146±205	-214±248	-163±258	-188±212	-197±229	0.702	0.771	0.523
Δ P-Σελεκτίνη, ng/ml	-30±30	-49±51	-30±69	-42±45	-43±57	0.604	0.534	0.484
Δ sCD40L, ng/ml	-2.31±2.57	-3.90±2.35	-0.99±4.34	-3.30±2.52	-2.93±3.37	0.062	0.053	0.590
Δ Υψηλής εναισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, ng/l	1.24±2.64	0.33±2.82	0.28±1.83	0.67±2.74	0.31±2.49	0.493	0.866	0.316

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *τιμή ± τυπική απόκλιση*.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (T επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (T υπολειπόμενο αλληλίο)

Δ, Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.

Πίνακας 10.14. Μεταβολές (Δ) που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε κλινικές και μεταβολικές παραμέτρους σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού XbaI 454-3.51A>G του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	AA (N=14)	AG (N=17)	GG (N=9)	AA/AG (N=31)	AG/GG (N=26)	P*	P†	P‡
Δ Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων [§]	-3±1	-3±1	-3±1	-3±1	-3±1	0.526	0.980	0.211
Δ Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	0.50±0.64	0.04±1.10	-1.08±1.91	0.26±0.93	-0.25±1.40	0.116	0.062	0.145
Δ Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-1±12	-8±13	-6±14	-5±13	-8±13	0.270	0.816	0.111
Δ Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-1±8	-3±7	-10±9	-2±7	-5±8	0.095	0.037	0.197
Δ Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	-1±4	-5±12	-1±4	-3±9	-4±10	0.340	0.676	0.241
Δ Ολική χοληστερόλη, mg/dl	-1.6±30	-5±37	-37±44	-10±34	-13±40	0.168	0.097	0.796
Δ Τριγλυκερίδια, mg/dl	16±27	2±50	5±61	8±41	3±52	0.659	0.850	0.305
Δ Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	2±12	2±10	-5±7	2±11	0±10	0.318	0.132	0.771
Δ Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	-2.1±32	-7±33	-33±37	-14±33	-14±35	0.245	0.213	0.543

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμιασης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (Γ επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (Τ υπολειπόμενο αλληλίο)

[§]Η μεταβολή στη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων εκτιμήθηκε με βάση πόσες βαθμίδες στην κλίμακα βαρύτητας (καθόλου έως πολύ σοβαρά) υποχωρούσαν τα συμπτώματα μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας.

Δ, Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.

Πίνακας 10.15. Μεταβολές (Δ) που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού XbaI 454-351A>G του οιστρογονικού υποδοχέα α.

	AA (N=14)	AG (N=17)	GG (N=9)	AA/AG (N=31)	AG/GG (N=26)	P*	P†	P‡
Δ Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχύνιας αρτηρίας, %	2.66±4.68	3.22±2.99	2.72±3.55	2.96±3.82	3.09±3.07	0.910	0.889	0.756
Δ 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχύνιας αρτηρίας, %	2.97±4.32	2.47±3.02	3.82±3.59	2.70±3.63	2.82±3.16	0.738	0.495	0.903
Δ Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραμία στη βραχύνια αρτηρία, %	2.14±3.03	2.10±2.38	1.88±2.38	2.12±2.66	2.04±2.32	0.978	0.837	0.910
Δ Νηροδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχύνιας αρτηρίας, %	-1.64±5.21	-0.73±4.83	2.76±3.43	-1.14±4.94	0.18±4.70	0.183	0.075	0.282
Δ Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	-173±205	-178±235	-214±253	-176±218	-188±235	0.929	0.704	0.845
Δ P-Σελεκτίνη, ng/ml	-39±31	-50±53	-9±78	-45±43	-39±61	0.240	0.315	0.993
Δ sCD40L, ng/ml	-2.90±2.77	-4.04±2.59	1.26±2.24	-3.50±2.69	-2.66±3.41	0.001	<0.001	0.821
Δ Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	1.01±2.30	0.30±2.92	0.30±2.14	0.63±2.63	0.30±2.69	0.575	1.00	0.329

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή *μέση τιμή ± τυπική απόκλιση*.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (Τ επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (Τ υπολειπόμενο αλληλίο)

Δ, Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.

Πίνακας 10.16. Μεταβολές (Δ) που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε κλινικές και μεταβολικές παραμέτρους σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού AluI 1730 A>G του οιστρογονικού υποδοχέα β.

	AA (N=15)	AG (N=16)	GG (N=9)	AA/AG (N=31)	AG/GG (N=25)	P*	P†	P‡
Δ Βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων [§]	-3±1	-3±1	-3±1	-3±1	-3±1	0.672	0.731	0.528
Δ Δείκτης μάζας σώματος, kg/m ²	-0.35±1.46	0.44±0.81	-0.01±1.26	0.06±1.22	0.30±0.96	0.091	0.460	0.114
Δ Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-3±14	-8±13	-4±12	-5±13	-7±12	0.575	0.846	0.377
Δ Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-5±9	-2±8	-3±4	-3±9	-2±7	0.639	0.937	0.391
Δ Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	-1±5	-5±11	2±6	-3±9	-3±11	0.161	0.190	0.449
Δ Ολική χοληστερόλη, mg/dl	-23±45	-12±31	4±21	-17±39	-7±29	0.288	0.179	0.199
Δ Τριγλυκερίδια, mg/dl	-3±31	18±48	12±57	8±42	16±50	0.907	0.817	0.191
Δ Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	-2±14	4±8	0±7	1±11	3±8	0.323	0.764	0.212
Δ Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, mg/dl	-20±42	-19±32	2±10	-20±36	-13±28	0.336	0.008	0.518

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)

P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (Τ επικρατές αλληλίο)

P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (Τ υπολειπόμενο αλληλίο)

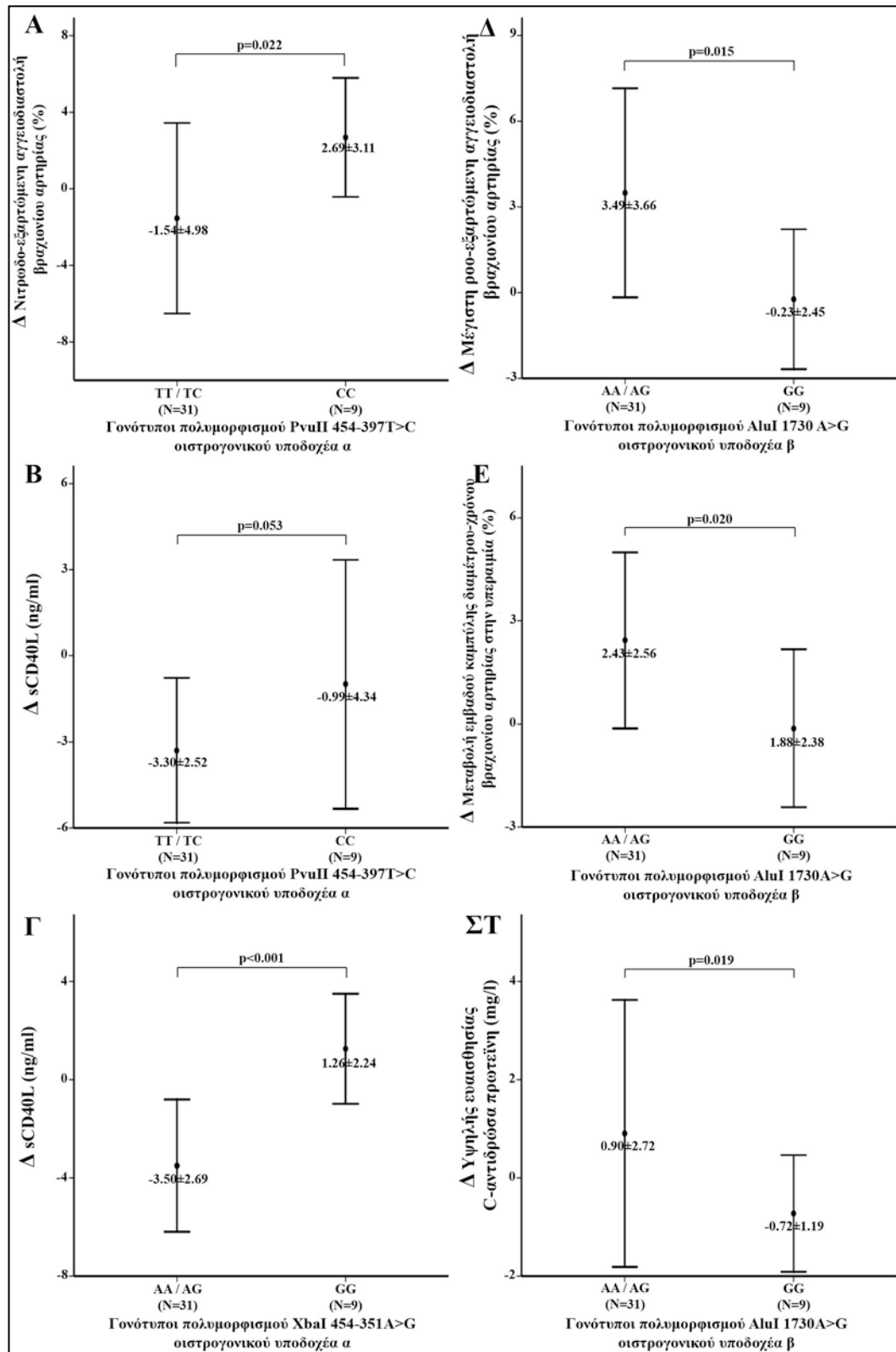
[§] Η μεταβολή στη βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων εκτιμήθηκε με βάση πόσες βαθμίδες στην κλίμακα βαρύτητας (καθόλου έως πολύ σοβαρά) υποχωρούσαν τα συμπτώματα μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας.

Δ , Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.

Πίνακας 10.17. Μεταβολές (Δ) που επέφερε η ορμονική θεραπεία σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε σχέση με το γονότυπο του πολυμορφισμού AluI 1730 A>G του οιστρογονικού υποδοχέα β.

	AA (N=15)	AG (N=16)	GG (N=9)	AA/AG (N=31)	AG/GG (N=25)	P*	P†	P‡
Δ Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχυόνας αρτηρίας, %	3.44±3.02	3.54±4.27	-0.23±2.45	3.49±3.66	2.39±4.15	0.054	0.015	0.405
Δ 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχυόνας αρτηρίας, %	3.31±3.30	3.52±3.78	0.61±3.27	3.42±3.52	2.63±3.82	0.173	0.060	0.578
Δ Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου- χρόνου από την αντιδραστική υπεραμία στη βραχυόνα αρτηρία, %	2.14±3.03	2.10±2.38	1.88±2.38	2.43±2.56	1.83±2.76	0.059	0.020	0.718
Δ Νπροοδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχυόνας αρτηρίας, %	-1.69±4.86	0.13±4.38	-0.71±7.19	-0.75±4.63	-0.10±5.11	0.610	0.986	0.282
Δ Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, ng/ml	-204±260	-136±201	-211±191	-168±229	-159±197	0.645	0.648	0.557
Δ P-Σελεκτίνη, ng/ml	-33±43	-51±57	-25±57	-42±51	-43±57	0.464	0.424	0.556
Δ sCD40L, ng/ml	-2.92±3.13	-2.96±2.48	-1.84±4.79	-2.94±2.75	-2.62±3.28	0.724	0.418	0.784
Δ Υψηλής εναισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, mg/l	0.27±2.92	1.46±2.49	-0.72±1.19	0.90±2.72	0.80±2.38	0.028	0.019	0.745

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.
P* σύγκριση μεταξύ των τριών γονοτύπων TT, TC και CC (Ανάλυση διακόμμανσης κατά έναν παράγοντα - One way ANOVA)
P† σύγκριση μεταξύ TT/TC και CC (Τ επικριτές αλληλίο)
P‡ σύγκριση μεταξύ TT και TC/CC (Τ υπολειπόμενο αλληλίο)
Δ, Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.



Εικόνα 10.1. Μεταβολές των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N=40) σε σχέση με το γονότυπο των μελετώμενων γενετικών πολυμορφισμών *PvuII* 454-397T>C (**Α,Β**) και *XbaI* 454-351 A>G (**Γ**) του οιστρογονικού υποδοχέα α και *AluI* 1730 A>G (**Δ-ΣΤ**) του οιστρογονικού υποδοχέα β.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης γραμμικής παλινδρόμησης και οι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των μεταβολών των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής που παρουσίασαν κάποια σημαντική αύξηση ή μείωση μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας παρουσιάζονται αναλυτικά στον **Πίνακα 10.18**.

- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της βελτίωσης της μέγιστης ροοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας ήταν η παρουσία του AluI A αλληλίου στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β ($p=0.012$) και η μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης από την ορμονική θεραπεία ($p=0.029$).
- ✓ Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης της ροοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία στα 60'' της υπεραιμίας με την ορμονική θεραπεία ήταν η μείωση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών από την ορμονική θεραπεία ($p=0.015$).
- ✓ Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της αύξησης της ποσοστιαίας μεταβολής του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου-χρόνου της βραχιόνιας αρτηρίας κατά την αντιδραστική υπεραιμία με την ορμονική θεραπεία ήταν η παρουσία του αλληλίου AluI A στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β ($p=0.01$) και η μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης με την ορμονική θεραπεία ($p=0.037$).
- ✓ Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της μείωσης του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 με την ορμονική θεραπεία ήταν η μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης με την ορμονική θεραπεία ($p=0.029$).
- ✓ Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της μείωσης του μορίου sCD40L με την ορμονική θεραπεία ήταν η παρουσία του αλληλίου XbaI A στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α ($p<0.001$).
- ✓ Καμιά από τις ανεξάρτητες μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση παλινδρόμησης δεν εμφάνιζε ανεξάρτητη προγνωστική αξία για τη μεταβολή των επιπέδων της P-Σελεκτίνης με την ορμονική θεραπεία.

Πίνακας 10.18. Ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των μεταβολών των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας

Προγνωστικοί παράγοντες	Συντελεστής B	ΔΕ 95%	Κριτήριο p	R ²
<i>Δ Μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας (R² 0.273, p=0.004)</i>				
Παρουσία <i>AluI</i> 1730 A αλληλίου στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β	3.704	0.879, 6.528	0.012	0.162
Δ Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-0.095	-0.179, -0.010	0.029	0.111
<i>Δ 60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή βραχιονίου αρτηρίας (R² 0.158, p=0.015)</i>				
Δ Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη, mg/dl	-0.042	-0.076, -0.009	0.015	0.158
<i>Δ Μεταβολή του εμβαδού της καμπύλης διαμέτρου βραχιονίου αρτηρίας – χρόνου από την αντιδραστική υπεραιμία (R² 0.270, p=0.005)</i>				
Παρουσία <i>AluI</i> 1730 A αλληλίου στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα β	2.640	0.671, 4.609	0.010	0.169
Δ Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	-0.063	-0.122, -0.004	0.037	0.101
<i>Δ Διακντταρικό μόριο προσκόλλησης - 1 (R² 0.128, p=0.029)</i>				
Δ Διαστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	9.891	1.045, 18.738	0.029	0.128
<i>Δ P-Σελεκτίνη</i>				
(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Δ sCD40L (R² 0.313, p<0.001)</i>				
Παρουσία <i>XbaI</i> 454-351 A αλληλίου στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α	-4.765	-7.185, -2.345	<0.001	0.313
Δ, Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.				

- ✓ Καμιά από τις ανεξάρτητες μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση παλινδρόμησης δεν εμφάνιζε ανεξάρτητη προγνωστική αξία για τη μεταβολή των επιπέδων της P-Σελεκτίνης με την ορμονική θεραπεία.

Εκτός από τις ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολών των δεικτών ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής από την ορμονικής θεραπεία δεν διαπιστώθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις στον τρόπο με τον οποίο η ορμονική θεραπεία μετέβαλλε

τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής (**Πίνακας 10.19**). Παρατηρήθηκε μόνο μια τάση θετικής συσχέτισης μεταξύ των μεταβολών του μορίου sCD40L και της P-Σελεκτίνης ($p=0.058$).

Πίνακας 10.19. Συσχετίσεις των μεταβολών των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας

	Δ sCD40L	Δ P-Σελεκτίνη	Δ ICAM-1	Δ AUC	Δ FMD60
Δ FMDmax	r 0.096 p=0.563	r 0.111 p=0.499	r -0.156 p=0.344	r 0.776 p<0.001	r 0.647 p<0.001
Δ FMD60''	r -0.044 p=0.788	r 0.110 p=0.503	r -0.259 p=0.111	r 0.751 p<0.001	
Δ AUC	r -0.057 p=0.730	r 0.122 p=0.458	r -0.286 p=0.077		
Δ ICAM-1	r -0.096 p=0.560	r -0.177 p=0.280			
Δ P-Σελεκτίνη	r 0.306 p=0.058				

Συντομώσεις: FMDmax - μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, FMD60 – ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στα 60'' από την υπεραιμία, AUC – μεταβολή εμβαδού καμπύλης διαμέτρου-χρόνου στην υπεραιμία, ICAM-1 – διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης – 1.
 Δ , Απόλυτη μεταβολή παραμέτρων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχέση με τις τιμές της πρώτης επίσκεψης.

10.9 Σύνοψη αποτελεσμάτων μελέτης παρέμβασης

Η χορήγηση διαδερμικής ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα βελτίωσε την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία και μείωσε τα επίπεδα δεικτών αγγειακής φλεγμονής (διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, P-Σελεκτίνη και μόριο sCD40L) σε σύγκριση με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονικής θεραπεία. Επιπλέον η ορμονική θεραπεία επέφερε σημαντικές μειώσεις στα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά από τις μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις γυναίκες που δεν έλαβαν θεραπεία. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας φαίνεται ότι επανέφερε στο φυσιολογικό τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες όταν συγκρίνονταν με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η βελτίωση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και

φλεγμονής με την ορμονική θεραπεία εξαρτιόνταν από την παρουσία συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων και από τη μείωση της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης που επέφερε η ορμονική θεραπεία. Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχαν τα αλληλία XbaI A και AluI A στα γονίδια των οιστρογονικών υποδοχέων α και β αντίστοιχα παρουσίαζαν βελτίωση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία και μείωση των επιπέδων των δεικτών αγγειακής φλεγμονής μετά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σύγκριση με γυναίκες που δεν έφεραν τα συγκεκριμένα αλληλία. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας με την ορμονική θεραπεία δεν σχετιζόνταν με τη βελτίωση στους δείκτες αγγειακής φλεγμονής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11^ο

Συζήτηση – Συμπεράσματα

11.1 Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Η ξεκάθαρη επίδραση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης των αγγείων και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο των γυναικών δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη και σήμερα καθώς υπάρχουν πολλοί συγχυτικοί παράγοντες οι οποίοι θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην αυξημένη εκδήλωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές. Παράλληλα με την εξέλιξη της εμμηνόπαυσης αυξάνεται η ηλικία αλλά και η επίπτωση αρκετών κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αποτέλεσμα να μην γνωρίζουμε ακριβώς αν ο αυξημένος καρδιαγγειακός κίνδυνος οφείλεται σε αυτούς τους παράγοντες ή στην απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων και των καρδιοπροστατευτικών δράσεών τους κατά την εμμηνόπαυση. Δεν υπάρχουν αρκετές καλά σχεδιασμένες μελέτες που να ελέγχουν την επίδραση αυτών των παραγόντων και να ξεκαθαρίζουν τη σχέση της εμμηνόπαυσης με την εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου.

Στην παρούσα μελέτη η σύγκριση υγιών εμμηνοπαυσιακών γυναικών πρόσφατης εμμηνόπαυσης με υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ίδιας ηλικίας έδειξε μικρές αλλά στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της διαστολικής αρτηριακής πίεσης (αύξηση κατά 5% περίπου σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες), ενώ διαφαίνονταν και η τάση (στατιστικά μη σημαντική) για υψηλότερες τιμές συστολικής αρτηριακής πίεσης (κατά 4% περίπου), ολικής χοληστερόλης (κατά 6% περίπου) και χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (κατά 8% περίπου). Οι διαφορές στα επίπεδα αυτών των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου όπως καταγράφονται στη μελέτη μας είναι μάλλον μικρές για να εξηγήσουν από μόνες τους τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο των εμμηνοπαυσιακών γυναικών σε σχέση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες

στο παρελθόν δεν φαίνεται να επιβεβαιώνουν την ύπαρξη κάποιας αιτιολογικής σχέσης μεταξύ της εμμηνόπαυσης και της αύξησης των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης [283-287]. Εξάλλου όπως αναφέρθηκε οι διαφορές ήταν μικρές και εντός των φυσιολογικών ορίων της αρτηριακής πίεσης για τον πληθυσμό μας. Από την άλλη οι επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει μια σαφή αύξηση της ολικής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [283, 285, 300, 304, 306-308] και μάλιστα εντός των πρώτων 3 ετών από τη φυσική εμμηνόπαυση [302] γεγονός που συνάδει με την παρατηρούμενη τάση των παραμέτρων αυτών και στο δικό μας πληθυσμό.

Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες στη μελέτη μας εμφάνιζαν επίσης έκδηλη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (όπως εκφράζεται από τη μείωση των μελετώμενων δεικτών της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία) πρώιμα στην εξέλιξη της φυσικής εμμηνόπαυσης (<3 έτη στην εμμηνόπαυση), σε μικρή σχετικά ηλικία (<55 ετών) και χωρίς την παρουσία άλλων κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε σύγκριση με υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ίδιας ηλικίας. Αντίστοιχες μελέτες στο παρελθόν έχουν δείξει ότι η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ηλικίας μεταξύ 53 και 58 ετών) είναι μειωμένη σε σύγκριση ωστόσο με αρκετά νεότερες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ηλικίας 30-35 ετών) [332-334] χωρίς επομένως να λαμβάνεται υπόψη η επίδραση της ηλικίας στη λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου. Η πρώιμη εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης στη μελέτη μας ταιριάζει με την πρώιμη εμφάνιση μειωμένης ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής σε γυναίκες με χειρουργική εμμηνόπαυση (εντός 1 εβδομάδας από το χειρουργείο) [336-338] και νέες γυναίκες (30-35 ετών) με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια [339]. Επιπλέον, η διαφορά στην ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών στη μελέτη μας παρέμενε σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα ακόμα και μετά τη στάθμιση για τις διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων γυναικών ως προς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (εν προκειμένω τα αυξημένα επίπεδα διαστολικής αρτηριακής πίεσης στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες). Γίνεται λοιπόν ξεκάθαρο ότι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου αποδίδεται στην εμφάνιση της φυσικής εμμηνόπαυσης και της απώλειας των ενδογενών οιστρογόνων και όχι στην ηλικία ή την επίδραση άλλων παραγόντων κινδύνου.

Η προγνωστική αξία της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας τόσο σε υγιείς πληθυσμούς [96, 98] όσο και ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα [92-95] έχει δείχτει σε πολλές αναδρομικές μελέτες. Αντίστοιχα, σε εμμηνοπαυσιακές

γυναίκες η μειωμένη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας σχετίζεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο ανεξάρτητα από την ύπαρξη άλλων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [97], ενώ σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με γνωστή στεφανιαία νόσο η μειωμένη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας σχετίζονταν με αυξημένη βαρύτητα αγγειογραφικής νόσου [660]. Επομένως, η ανίχνευση της πρώιμης εμφάνισης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες όπως κατάγράφεται στη μελέτη μας, είναι πιθανόν να αποτελεί μια ένδειξη του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου που σχετίζεται με την εμμηνόπαυση. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε αυτές τις γυναίκες θα μπορούσε να οδηγήσει σε καλύτερη καρδιαγγειακή πρόγνωση [105] αν και δεν υπάρχουν μεγάλες προοπτικές μελέτες που να στηρίζουν την υπόθεση αυτή.

Σε αντίθεση με την επιδείνωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας δεν παρατηρήθηκε καμιά διαφορά στο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης σε σχέση με ίδιας ηλικίας προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Είναι γνωστό ότι υπάρχει μια μάλλον ξεκάθαρη τάση ταχύτερης αύξησης του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων σε γυναίκες με χειρουργική εμμηνόπαυση ή γυναίκες που εμφάνισαν πολύ σύντομη περιεμμηνόπαυση [351, 352] κάτι που πολύ πιθανόν να σχετίζεται με την απότομη μείωση των ενδογενών οιστρογόνων. Αντιθέτως, τα δεδομένα είναι πιο ασαφή στην πλειονότητα των γυναικών με φυσική εμμηνόπαυση. Σε παλαιότερες μελέτες, σε γυναίκες 45 – 54 ετών (όπως και ο πληθυσμός της παρούσας μελέτης), το πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων δεν διέφερε μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και γυναικών πρόσφατης φυσικής εμμηνόπαυσης [345, 353], αλλά παρατηρήθηκε αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά από τουλάχιστον 3-5 έτη σε φυσική εμμηνόπαυση (σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες) [346, 353-355]. Ωστόσο, δεν είναι ξεκάθαρο αν οι διαφορές αυτές είναι αποτέλεσμα της εμμηνόπαυσης καθαυτής ή της αλληλεπίδρασης της αύξησης της ηλικίας με την παρατεταμένη απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων στις γυναίκες αυτές. Λόγω της στενής συσχέτισης της ηλικίας με την εμμηνόπαυση η ανεξάρτητη επίδραση της μετάβασης στην εμμηνόπαυση στην εξέλιξη της υποκλινικής δομικής αθηρωματικής νόσου δεν είναι εύκολο να καθορισθεί [354].

Τα παραπάνω δεδομένα, λοιπόν, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η πρωταρχική διαταραχή των αγγείων κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση είναι η εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και όχι το αυξημένο πάχος έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων, το οποίο

αντικατοπτρίζει περισσότερο την παρουσία δομικής αθηρωματικής νόσου στα αγγεία. Είναι γνωστό εξάλλου από την παθοφυσιολογία της αθηρωμάτωσης ότι η δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου μπορεί να ανιχνευτεί πολύ πρώιμα, πριν την εγκατάσταση εμφανών δομικών μεταβολών των αγγείων, ορατών στην αγγειογραφία ή τον υπέρηχο [64], ενώ έχειδειχτεί ότι μπορεί να προβλέψει και την ίδια την εξέλιξη της υποκλινικής αθηρωμάτωσης των καρωτίδων [661]. Άτομα με επιδεινωμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία παρουσιάζουν ταχύτερη αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων. Επομένως η δοκιμασία της βραχιόνιας αρτηρίας θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί έτσι ώστε να αναγνωρίζει εγκαίρως εκείνες τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης δομικής αθηρωματικής νόσου μετά την εμμηνόπαυση [662].

Η διαπίστωση αυξημένων δεικτών αγγειακής φλεγμονής (P-Σελεκτίνη και μόριο sCD40L) σε υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αποτελεί ένα ακόμη σημαντικό κομμάτι στο πάζλ του αυξημένου αθηρωματικού και καρδιαγγειακού κινδύνου σε γυναίκες κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση. Γενικά, η επίδραση της εμμηνόπαυσης στην αγγειακή φλεγμονή δεν είναι τόσο καλά μελετημένη όσο η επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Οι λίγες και σχετικά μικρές μελέτες που υπάρχουν δείχνουν διαφορετικές επιδράσεις ανάλογα με τον υπό μελέτη δείκτη φλεγμονής. Η μεταβολή των επιπέδων του μορίου sCD40L στην εμμηνόπαυση δεν έχει μελετηθεί ξανά στο παρελθόν. Το μόριο sCD40L συμμετέχει στην ανάπτυξη και εξέλιξη των αθηρωματικών πλακών [54] και θεωρείται ότι αποτελεί έναν καλό δείκτη της υποκείμενης αγγειακής φλεγμονής σε σχετικά υγιείς πληθυσμούς χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο, όπως ο πληθυσμός των εμμηνοπαυσιακών γυναικών στην παρούσα μελέτη [141]. Τα υψηλότερα επίπεδα του sCD40L έχουν συσχετιστεί επανειλημμένα με αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με γνωστή σταθερή στεφανιαία νόσο ή οξεία στεφανιαία σύνδρομα, ενώ η προγνωστική τους αξία σε υγιείς πληθυσμούς είναι λιγότερο καλά μελετημένη [140]. Θεωρούμε ότι τα επίπεδα του sCD40L που μετρήθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι ένας δείκτης της υποκείμενης αγγειακής φλεγμονής και δεν προήλθαν από την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είτε *in vivo* (υγιείς γυναίκες, όσο το δυνατόν ατραυματική αιμοληψία) ή *in vitro* (λήψη δειγμάτων σε συγκεκριμένη ώρα της ημέρας, σωστή επεξεργασία δειγμάτων αίματος, σύντομη παραμονή σε θερμοκρασία 4°C).

Η P-Σελεκτίνη ανήκει στην κατηγορία των μορίων προσκόλλησης με αποδεδειγμένη συμμετοχή στην έναρξη της αθηρωματικής διεργασίας των αγγείων αλλά και την ενεργ-

γοποίηση των αιμοπεταλίων (προ-θρομβωτική δράση) [54]. Παρά το γεγονός ότι σε προηγούμενη μελέτη δεν ανεδείχθησαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της P-Σελεκτίνης μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών [318], η παρουσία αυξημένων επιπέδων P-Σελεκτίνης σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μπορεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβάντων όπως έχει δείχτεί σε μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες [173]. Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη η ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της P-Σελεκτίνης και του μορίου sCD40L, αλλά και η έλλειψη συσχέτισης με τα μειωμένα επίπεδα της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες πιθανώς υποδεικνύει τη συμμετοχή των δυο μορίων σε κοινή παθοφυσιολογική οδό της αθηρωμάτωσης, η οποία επιπλέον φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τη δράση του μονοξειδίου του αζώτου.

Σε αντίθεση με την P-Σελεκτίνη και το μόριο sCD40L δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 και της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών. Αντίστοιχες μελέτες στο παρελθόν έχουν δείξει ότι η εμμηνόπαυση δεν σχετίζεται με κάποια μεταβολή στα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης [283, 319], ενώ σε μια μόνο μελέτη βρέθηκε ότι το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 είναι αυξημένο σε εμμηνοπαυσιακές σε σχέση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [318]. Σίγουρα, όμως χρειάζονται περισσότερες μελέτες που να ξεκαθαρίζουν την επίδραση της εμμηνόπαυσης σε δείκτες αγγειακής φλεγμονής, καθώς τα μέχρι σήμερα δεδομένα είναι λίγα και αντικρουόμενα πολλές φορές από μελέτη σε μελέτη.

11.2 Προγνωστικοί παράγοντες δεικτών αγγειακής λειτουργιάς και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Η αναζήτηση ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων των διαφόρων δεικτών αγγειακής λειτουργιάς και φλεγμονής στις γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης έγινε με σκοπό να διερευνηθεί αν οι δείκτες αυτοί μεταβάλλονται από τους ίδιους παράγοντες όπως και στο γενικό πληθυσμό ή εξαρτώνται και από άλλες παραμέτρους που έχουν άμεση σχέση με την εμμηνόπαυση (π.χ. εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα). Θα πρέπει δε να τονιστεί εξ αρχής ότι σε καμιά περίπτωση η ανάλυση αυτή δεν οδηγούσε στην εύρεση αιτιολογικών

συσχετίσεων, αλλά μάλλον επιδημιολογικών των οποίων η κλινική σημασία δεν ήταν πάντα εμφανής εκ πρώτης όψεως. Επίσης τα μοντέλα πρόγνωσης που προέκυψαν από αυτή την ανάλυση αυτή διέθεταν μικρή έως μέτρια ικανότητα πρόβλεψης της συνολικής διακύμανσης των μελετώμενων δεικτών στον πληθυσμό της μελέτης καθώς μπορούσαν να εξηγήσουν κάθε φορά 5-35 % μόνο της συνολικής διακύμανσης του κάθε δείκτη. Η πιο προφανής εξήγηση της διαπίστωσης αυτής είναι ότι υπάρχουν και άλλοι σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν την αγγειακή λειτουργία και φλεγμονή σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες και οι οποίοι δεν συμπεριελήφθησαν εξαρχής στο σχεδιασμό της μελέτης.

Η ενδοθηλιακή λειτουργία των γυναικών πρόσφατης εμμηνόπαυσης φαίνεται ότι εξαρτάται τόσο από την επίδραση κλασικών παραγόντων κινδύνου (επίπεδα χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών) όσο και από παραμέτρους που σχετίζονται με τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, όπως η βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνόπαυσιακών συμπτωμάτων (εξάψεις και επιδρώσεις). Η προγνωστική αξία των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων στην εμφάνιση υποκλινικής αθηρωμάτωσης και την καρδιαγγειακή πρόγνωση γενικότερα θα αναλυθεί με λεπτομέρειες αμέσως παρακάτω. Η χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών αποτελούσε τον δεύτερο πιο σημαντικό προγνωστικό παράγοντα της ενδοθηλιακής λειτουργίας στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες. Παλαιότερες μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι τα αυξημένα επίπεδα της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών σχετίζονται με βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας [663] αλλά και με μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου [664]. Στην παρούσα μελέτη η συμβολή της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης στην πρόβλεψη της ενδοθηλιακής λειτουργίας ήταν μάλλον μικρή όπως καθορίζονταν από τα μοντέλα πρόγνωσης, καθώς μπορούσε να εξηγήσει μόνο το 5% της συνολικής μεταβλητότητας των διαφόρων δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας στον πληθυσμό μας. Η αύξηση των επιπέδων της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης κατά 5 mg/dl σχετίζονταν με μια ποσοστιαία αύξηση κατά περίπου 4 % (απόλυτη διαφορά 0.22 %) της μέσης τιμής της μέγιστης ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία.

Το πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων βρέθηκε να εξαρτάται από την ηλικία και τη συστολική αρτηριακή πίεση των εμμηνόπαυσιακών γυναικών και όχι από παράγοντες που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση. Τόσο η ηλικία όσο και η αρτηριακή πίεση θεωρούνται από τους πιο σημαντικές παραμέτρους που σχετίζονται με την υποκλινική αθηρωμάτωση των καρωτίδων σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες [354] αλλά και στο γενικό πληθυσμό [665]. Ωστόσο, και οι δυο αυτοί παράγοντες μπορούν να προβλέψουν ένα πολύ μικρό

κομμάτι της συνολική διακύμανσης του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (<7 %). Παρατηρήθηκε ότι για κάθε 10 mmHg αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης και για κάθε αύξηση της ηλικίας κατά 5 έτη, το μέσο και μέγιστο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων αυξάνονταν κατά 0.01 και 0.02 mm αντίστοιχα. Η κλινική σημασία της συσχέτισης της συστολικής αρτηριακής πίεσης με την υποκλινική αθηρωμάτωση των καρωτίδων όσο αδύναμη και αν είναι υποδεικνύει την ανάγκη για τη σωστή ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης ακόμη και σε σχετικά νέες και υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες καθώς η μακροχρόνια επίδραση (αλληλεπίδραση ηλικίας και αρτηριακής πίεσης) αυτής της συσχέτισης στον καρδιαγγειακό κίνδυνο δεν είναι γνωστή.

Η βαρύτητα των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων, ο χρόνος από την τελευταία έμμηνο ρύση και ο δείκτης μάζας σώματος προέβλεπαν περίπου το 20 % της συνολικής μεταβλητότητας του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αύξηση του σωματικού βάρους (όπως εκτιμάται με την αύξηση του δείκτη μάζας σώματος) και η εμφάνιση παχυσαρκίας σχετίζεται με την παρουσία αγγειακής φλεγμονής και αυξημένων επιπέδων του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 όπως έχει δειχτεί και σε παλαιότερες μελέτες στο γενικό πληθυσμό [666, 667]. Εντύπωση προκαλεί όμως το γεγονός ότι ενώ τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προ-εμμηνοπαυσιακών γυναικών στην παρούσα μελέτη, εντούτοις φαίνεται να σχετίζονται με παραμέτρους που είναι άμεσα συνδεδεμένοι με την εμμηνόπαυση όπως τα αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα και ο χρόνος από την τελευταία έμμηνο ρύση. Η αύξηση του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 σε γυναίκες που παρουσιάζουν εξάψεις και επιδρώσεις έχει δειχτεί και σε άλλες μελέτες [668] και συνάδει με την παράλληλη επιδείνωση των δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με πιο σοβαρά αγγειοκινητικά συμπτώματα. Ωστόσο, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 9.2.Α** σε αντίθεση από το αναμενόμενο, τα επίπεδα του μορίου είναι χαμηλότερα στις γυναίκες χωρίς συμπτώματα σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές, ενώ οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και οι εμμηνοπαυσιακές με αγγειοκινητικά συμπτώματα δεν παρουσιάζουν καμιά διαφορά. Επιπλέον, κατά επίσης παράδοξο τρόπο τα επίπεδα του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 σχετίζονταν αντίστροφα με το χρόνο από την τελευταία έμμηνο ρύση. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, όχι μόνο δεν αυξάνεται κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, αλλά μάλλον μειώνεται σταδιακά μετά την τελευταία έμμηνο ρύση. Η επιβεβαίωση αυτών των ευρημάτων σε μελλοντικές μελέτες θα σή-

μαινε ότι το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της αγγειακής φλεγμονής και του αθηρωματικού κινδύνου σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Προς στήριξη των αποτελεσμάτων μας δεν θεωρούμε ότι υπήρξαν ψευδώς υψηλές τιμές στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αφού η λήψη και επεξεργασία των δειγμάτων έγινε κατά τον ίδιο τρόπο ενώ η ανάλυση των κατεψυγμένων δειγμάτων έγινε την ίδια χρονική στιγμή και για τις δυο ομάδες.

Οι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των επιπέδων της P-Σελεκτίνης στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ήταν τα τριγλυκερίδια και η βαρύτητα των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων και μπορούσαν να προβλέψουν μόνο το 8 % της συνολικής μεταβλητότητας της P-Σελεκτίνης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Δεν υπάρχουν παλαιότερα δεδομένα σχετικά με τη σχέση των αγγειοκινητικών εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων και της P-Σελεκτίνης αλλά τα αποτελέσματα φαίνεται ότι συμφωνούν με την παράλληλη επιδείνωση άλλων δεικτών αγγειακής φλεγμονής (διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1) και λειτουργίας (ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) στην παρούσα μελέτη. Από την άλλη υπάρχουν λίγες μελέτες που να δείχνουν μια θετική συσχέτιση μεταξύ τριγλυκεριδίων και P-Σελεκτίνης [669, 670] χωρίς όμως να υπάρχει κάποια υπόθεση για την εξήγηση μιας αιτιολογικής σχέσης μεταξύ των δυο αυτών παραμέτρων. Τα αυξημένα τριγλυκερίδια είναι γνωστό ότι αποτελούν έναν σημαντικό προγνωστικό παράγοντα αυξημένης επίπτωσης καρδιαγγειακών νοσημάτων στις γυναίκες [671, 672] και η συσχέτισή τους με δείκτες αγγειακής φλεγμονής μπορεί να αποτελεί έναν σύνδεσμο με τον αυξημένο κίνδυνο αθηρωμάτωσης. Από την άλλη είναι πιθανόν ότι τόσο τα τριγλυκερίδια όσο και η P-Σελεκτίνη να αυξάνονται στα πλαίσια αυξημένου σωματικού βάρους (προ-φλεγμονώδης κατάσταση, υπερτριγλυκεριδαιμία) κάτι που εξηγεί και τη θετική συσχέτιση (αλλά στατιστικά μη σημαντική) μεταξύ αυξημένου δείκτη μάζας σώματος και P-Σελεκτίνης στη μελέτη μας.

Το μόριο sCD40L βρέθηκε να εξαρτάται από τα επίπεδα της συστολικής αρτηριακής πίεσης και της θυλακιοτρόπου ορμόνης αν και οι δυο αυτοί παράγοντες μπορούσαν να προβλέψουν μόλις το 8 % της μεταβλητότητας του μορίου στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Έχει δειχτεί στο παρελθόν ότι οι κλασικοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η αρτηριακή πίεση, παρουσιάζουν αθροιστική επίδραση στα επίπεδα του sCD40L [140]. Στην παρούσα μελέτη η αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης κατά 10 mmHg σχετίζεται με μια αύξηση κατά 0.5 ng/ml στα επίπεδα του sCD40L. Από την άλλη δεν είναι εμφανής η όποια πιθανή παθοφυσιολογική σχέση μεταξύ της αύξησης της θυλακιοτρόπου ορμόνης και των αυξημένων επιπέδων του μορίου sCD40L.

Τέλος, οι προγνωστικοί παράγοντες των επιπέδων της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ήταν ο δείκτης μάζας σώματος, η θυλακιοτρόπος ορμόνη και τα τριγλυκερίδια. Οι παράγοντες αυτοί προέβλεπαν το 35 % της μεταβλητότητας της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τόσο ο δείκτης μάζας σώματος όσο και τα τριγλυκερίδια σχετίζονται με το αυξημένο σωματικό βάρος και την παρουσία παχυσαρκίας, οι οποίοι είναι ίσως οι πιο σημαντικές παράμετροι που καθορίζουν τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στον ορό [673]. Η συσχέτιση των επιπέδων της θυλακιοτρόπου ορμόνης με τη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη δεν έχει μελετηθεί στο παρελθόν και δεν υπάρχει (όπως και στην περίπτωση του μορίου sCD40L) κάποια γνωστή παθοφυσιολογική οδός που να εξηγεί τη σχέση αυτή. Το γεγονός ότι η προγνωστική αξία της θυλακιοτρόπου ορμόνης είναι μικρή (όπως και για το sCD40L) αλλά και ότι δεν παρουσιάζει συνέπεια ως προς τις συσχετίσεις της με τους δείκτες φλεγμονής (θετική με το sCD40L και αρνητική με τη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) υποστηρίζουν την άποψη ότι οι συσχετίσεις αυτές στερούνται μάλλον κλινικής σημασίας.

11.3 Επίδραση ορμονικής θεραπείας σε παράγοντες κινδύνου και δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής

Η χορήγηση διαδερμικής θεραπείας με 17β-οιστραδιόλη σε συνδυασμό με κυκλική χορήγηση προγεστερόνης από το στόμα για 3 μήνες ήταν αποτελεσματική σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης για τη μείωση των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων, τα οποία ήταν και η ένδειξη χορήγησης ορμονών σε αυτές τις γυναίκες. Παράλληλα, όπως αναμένονταν, επέφερε μια αντιστροφή στο ορμονικό προφίλ των εμμηνοπαυσιακών γυναικών αυξάνοντας την οιστραδιόλη ορού σε επίπεδα όμοια με αυτά των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και μειώνοντας τη θυλακιοτρόπο ορμόνη, η οποία όμως μετά τους 3 μήνες εξακολούθησε να είναι σε υψηλότερα επίπεδα από αυτά των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν σαφώς υπέρ της δραστηριότητας και αποτελεσματικότητας της δοσολογίας και του συνδυασμού ορμονικής θεραπείας που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη και θέτουν τη βάση για τη διερεύνηση άλλων πλειοτροπικών επιδράσεων της θεραπείας με οιστρογόνα σε μεταβολικές παραμέτρους και τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Εξάλλου μια από τις επιδιώξεις της μελέτης ήταν η

διερεύνηση των επιδράσεων στο καρδιαγγειακό σύστημα ενός σχήματος ορμονικής θεραπείας το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως στην καθημερινή πράξη επί εγκεκριμένων ενδείξεων (εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα) σε πληθυσμούς εμμηνοπαυσιακών γυναικών.

Το 30% των αντι-αθηρογόνων και καρδιοπροστατευτικών δράσεων των οιστρογόνων αποδίδεται στις επωφελείς επιδράσεις της χορήγησης οιστρογόνων σε κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (π.χ. αρτηριακή πίεση, λιπίδια). Στην παρούσα μελέτη, η ορμονική θεραπεία βελτίωσε την αρτηριακή πίεση και την ολική και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη. Παρά το γεγονός ότι οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία παρουσίασαν μια μικρή (στατιστικά μη σημαντική) επιδείνωση της μέσης τιμής της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης οι μεταβολές αυτές μεταξύ των δυο ομάδων δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική διαφορά (**Πίνακας 10.8**).

Πιο αναλυτικά η ορμονική θεραπεία προκάλεσε κάποιες μικρές μειώσεις στα επίπεδα της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης (κατά περίπου 3.5 % ή 3-4 mmHg) εξαφανίζοντας τις αρχικές διαφορές μεταξύ εμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Η επίδραση της ορμονικής θεραπείας (τόσο διαδερμική όσο και από του στόματος χορήγηση) στην αρτηριακή πίεση έχει αναφερθεί και σε άλλες μελέτες στο παρελθόν [674], χωρίς όμως να έχει μελετηθεί ποτέ η κλινική της σημασία μακροπρόθεσμα. Κλινικές μελέτες σε υπερτασικούς ασθενείς δείχνουν ότι χρειάζονται ίσως λίγο μεγαλύτερες μεταβολές της συστολικής (περίπου 10 mmHg) και διαστολικής (περίπου 5-6 mmHg) αρτηριακής πίεσης για να δούμε κάποιο σημαντικό όφελος στην καρδιαγγειακή πρόγνωση [675]. Ωστόσο, σε υγιείς μη υπερτασικούς πληθυσμούς όπως στη μελέτη μας (μέση τιμή αρτηριακής πίεσης 124/80 mmHg) οι μικρές μεταβολές της αρτηριακής πίεσης ίσως είναι σημαντικές για τη μείωση της υποκλινικής αθηρωμάτωσης (π.χ. αρτηριακή σκληρία, πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων) και επομένως και του μακροπρόθεσμου καρδιαγγειακού κινδύνου.

Επιπρόσθετα, η ορμονική θεραπεία μείωσε την ολική και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη κατά 5 % και 10 % αντίστοιχα χωρίς να επηρεάζει τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών. Αντίστοιχες μικρές μεταβολές με τη χορήγηση διαδερμικής ορμονικής θεραπείας έχουν αναφερθεί και στο παρελθόν [451], ενώ η από του στόματος χορήγηση των οιστρογόνων σχετίζεται τόσο με μεγαλύτερες μειώσεις της ολικής και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης όσο και με αύξηση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης [445, 452]. Η χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών αποτελεί τον πιο σημαντικό

παράγοντα στην έναρξη και εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και τα επίπεδά της παρουσιάζουν ισχυρή συσχέτιση με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο [2]. Επιπλέον, είναι ίσως ο μόνος παράγοντας κινδύνου που αποδεδειγμένα αυξάνεται κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση [283] και επομένως η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε γυναίκες στην πρώιμη φάση της εμμηνόπαυσης μπορεί να σχετίζεται με μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου μέσω της μείωσης των επιπέδων της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών. Ωστόσο, η βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας δεν έχει συσχετιστεί ποτέ με αντίστοιχη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου στην εμμηνόπαυση αλλά φαίνεται ότι συνδέεται με την επιβράδυνση της υποκλινικής αθηρωματικής νόσου των καρωτίδων μετά από χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε σχετικά υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [543].

Η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία βελτιώθηκε σημαντικά με τη χορήγηση διαδερμικής ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες. Ωστόσο, οι διάφοροι μελετώμενοι δείκτες παρουσίαζαν διαφορές ως προς το μέγεθος της μεταβολής και την αποκατάσταση σε φυσιολογικά επίπεδα σε σύγκριση με προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η μέγιστη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας δεν διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, σε αντίθεση με τους υπόλοιπους δυο δείκτες (60'' ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και εμβαδόν καμπύλης διαμέτρου – χρόνου από την αντιδραστική υπεραϊμία) οι οποίοι παρέμεναν σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτά των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Τα ευρήματα αυτά ίσως είναι ενδεικτικά των επιδράσεων των οιστρογόνων στα διάφορα χαρακτηριστικά της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (μέγιστη, στα 60'', συνολική υπεραϊμία) κάτι που δεν έχει μελετηθεί στο παρελθόν και δεν γνωρίζουμε σαφώς την κλινική του σημασία. Η ορμονική θεραπεία έχει δείξει ότι βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία κυρίως σε υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [452, 484, 513-523, 658] ή γυναίκες με λίγους παράγοντες κινδύνου [332, 524-527] ανεξάρτητα από τη δοσολογία ή την οδό χορήγησης. Από την άλλη το αγγειακό ενδοθήλιο φαίνεται να μην ανταποκρίνεται στη χορήγηση οιστρογόνων σε ηλικιωμένες εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, με πολλούς παράγοντες κινδύνου, σακχαρώδη διαβήτη ή και γνωστή καρδιαγγειακή νόσο [523, 530-532, 534-536], ενώ σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να εμφανίζεται ακόμη και παράδοξη επιδείνωση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε αυτούς τους πληθυσμούς [533]. Η προγνωστική αξία της βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας με την ορμονική θεραπεία δεν έχει μελετηθεί στο παρελθόν, ενώ και γενικότερα υπάρχουν λίγα δεδομένα

όσον αφορά την κλινική σημασία της βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Σε μια μόνο μελέτη σε εμμηνοπαυσιακές υπερτασικές γυναίκες η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας με την αντιυπερτασική αγωγή σχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβάντων [105].

Η διαδερμική χορήγηση οιστραδιόλης για 3 μήνες μείωσε επίσης και τους δείκτες αγγειακής φλεγμονής (διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, P-Σελεκτίνη, sCD40L) εκτός από την υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η οποία δεν εμφάνισε καμιά μεταβολή. Η χορήγηση οιστρογόνων (διαδερμικά ή από του στόματος) σχετίζεται με μείωση των επιπέδων του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 [318, 517, 658, 659], ενώ οι επιδράσεις στην P-Σελεκτίνη δεν είναι τόσο ξεκάθαρες καθώς υπάρχουν κάποιες μελέτες που δείχνουν σαφή μείωση των επιπέδων του μορίου στο αίμα μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας [318, 676] και άλλες που δεν αναφέρουν καμιά απολύτως επίδραση [659]. Στην παρούσα μελέτη η βραχύχρονη χορήγηση 17β-οιστραδιόλης διαδερμικά οδήγησε σε μείωση των επιπέδων και των δυο δεικτών κατά περίπου 30 % επαναφέροντας την μεν P-Σελεκτίνη σε επίπεδα όμοια και το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 σε επίπεδα χαμηλότερα σε σχέση με τα επίπεδα των υγιών προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Ωστόσο παρατηρήθηκε ότι και στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία τα επίπεδα της P-Σελεκτίνης παρουσίαζαν μια μικρή μείωση (περίπου 5 %) στους 3 μήνες με αποτέλεσμα να μην διαφέρουν στατιστικά σημαντικά οι μεταβολές μεταξύ των δυο ομάδων εμμηνοπαυσιακών γυναικών (με ή χωρίς θεραπεία) (**Πίνακας 10.9**). Θεωρούμε ότι το εύρημα αποδίδεται στη μεγάλη τυπική απόκλιση των μεταβολών της P-Σελεκτίνης μετά από 3 μήνες και στις δυο ομάδες με συνέπεια να απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός συμμετεχόντων σε κάθε ομάδα για να αποδειχτούν οι παρατηρούμενες διαφορές και στατιστικά. Κάτι αντίστοιχο δεν παρατηρήθηκε για την περίπτωση του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης όπου η επίδραση της ορμονικής θεραπείας ήταν αδιαμφισβήτητη. Σε κάθε περίπτωση η κλινική σημασία των μεταβολών αυτών των δεικτών τόσο στο γενικό πληθυσμό όσο και συγκεκριμένα με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν είναι γνωστή.

Το μόριο sCD40L είναι ένας σχετικά νεότερος δείκτης (σε σχέση με το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 και την P-Σελεκτίνη) αγγειακής φλεγμονής και αθηροθρόμβωσης. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας επέφερε μείωση κατά περίπου 45 % των επιπέδων του μορίου σε επίπεδα όμοια με αυτά των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Σε παλαιότερες μελέτες, η *in vitro* χορήγηση οιστραδιόλης σε ενδοθηλιακά κύτταρα μείωσε την

ενεργοποίηση του συστήματος CD40/CD40L [492], ενώ σε αντίθεση με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης η ορμονική θεραπεία (διαδερμική ή από του στόματος) δεν επέφερε καμιά μεταβολή του μορίου sCD40L σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [493, 677]. Όπως και στην περίπτωση του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 και της P-Σελεκτίνης δεν υπάρχουν δεδομένα που να συσχετίζουν τις μεταβολές του sCD40L μετά από θεραπεία με την καρδιαγγειακή πρόγνωση.

Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε εμμηνοπαυσιακές δεν μετέβαλλε τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στην παρούσα μελέτη. Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη δεν είναι μόνο ένας δείκτης της αγγειακής φλεγμονής αλλά έχει δείχτει ότι συμμετέχει ενεργά στη διαδικασία της αθηρογένεσης [109, 118, 119] και τα αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης σχετίζονται με αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [124-126]. Η αύξηση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας από του στόματος και κυρίως συζευγμένων οιστρογόνων θεωρείται ότι αποτελεί έναν από τους λόγους για τους οποίους οι μεγάλες κλινικές μελέτες δεν έδειξαν κάποιο όφελος με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας. Αντιθέτως, η χρήση 17β-οιστραδιόλης [461, 462] και η διαδερμική οδός χορήγησης [488, 490, 504, 527, 600, 601] (όπως στη μελέτη μας) φαίνεται ότι διατηρούν τις επωφελείς δράσεις στη βελτίωση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής και τη μείωση των μορίων προσκόλλησης χωρίς να μεταβάλλουν τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης.

Η αναζήτηση προγνωστικών παραγόντων των μεταβολών που επέφερε η ορμονική θεραπεία στους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής έγινε με σκοπό να ξεκαθαριστεί αν οι μεταβολές αυτές αποδίδονται στη βελτίωση των παραγόντων κινδύνου (αρτηριακή πίεση και λιπίδια) μετά τη θεραπεία ή σε άμεσες δράσεις (γενωμικές ή μη γενωμικές) των ορμονών στα αγγεία. Η μείωση των επιπέδων της συστολικής αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών με την ορμονική θεραπεία αποτελούσαν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της βελτίωσης τόσο της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής όσο και δεικτών αγγειακής φλεγμονής (διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1). Ωστόσο οι μεταβολές της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης μπορούσαν να εξηγήσουν περίπου 10-15 % των επωφελών δράσεων της ορμονικής θεραπείας στους διάφορους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Οι μελετώμενοι γενετικοί πολυμορφισμοί των οιστρογονικών υποδοχέων α και β φαίνεται ότι καθορίζουν επίσης τη δράση των οιστρογόνων στη βελτίωση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του μονοξειδίου του αζώτου) και τη μείωση των

επιπέδων του μορίου sCD40L σε ποσοστό 15-20 % και 30 % αντίστοιχα. Σε κάθε περίπτωση κανένα από τα μοντέλα πρόγνωσης που δημιουργήθηκαν δεν μπορούσε να προβλέψει πάνω από 30 % των επιδράσεων της ορμονικής θεραπείας στους δείκτες αγγειακής λειτουργία και φλεγμονής, ενώ συγκεκριμένα για την P-Σελεκτίνη δεν υπήρχε καμιά συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών του μορίου με τη θεραπεία και των άλλων μελετώμενων παραμέτρων. Το υπόλοιπο 70-75 % των επιδράσεων θεωρούμε ότι αποδίδεται: 1) στις άμεσες γενωμικές και μη γενωμικές δράσεις των οιστρογόνων στο αγγειακό ενδοθήλιο μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων α και β και οι οποίες δεν ήταν εύκολο να ποσοτικοποιηθούν και να εκτιμηθούν σε μια κλινική μελέτη, 2) στη συμμετοχή του νεότερου διαμεμβρανικού οιστρογονικού υποδοχέα συνδεδεμένου με G πρωτεΐνη στη ρύθμιση της αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής κάτι που δεν συμπεριλήφθηκε στην παρούσα μελέτη και 3) στις μεταβολές νεότερων παραγόντων κινδύνου (π.χ. ομοκυστεΐνη, ινωδογόνο) με τη χορήγηση της ορμονικής θεραπείας. Επιπλέον θα πρέπει να τονιστεί ότι δεν είναι πλήρως γνωστός ο ακριβής ρόλος των δυο κλασικών οιστρογονικών υποδοχέων α και β στη μεσολάβηση των καρδιαγγειακών δράσεων των οιστρογόνων. Σε υγιή αγγεία φαίνεται ότι η ενεργοποίηση των δυο υποδοχέων οδηγεί στη ρύθμιση διαφορετικών μη αλληλεπικαλυπτόμενων γονιδίων [407] κάτι που υποστηρίζεται και από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Αντιθέτως, σε αθηρωματικά αγγεία φαίνεται ότι ο κύριος ρυθμιστής των οιστρογονικών δράσεων στα αγγεία είναι ο οιστρογονικός υποδοχέας β [408-410].

Η επωφελής επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε μεταβολικές παραμέτρους (αρτηριακή πίεση και λιπίδια) καθώς και σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής με γνωστή προγνωστική αξία στην εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως προκύπτει από την παρούσα αλλά και άλλες μελέτες κατά το παρελθόν [373, 466, 467, 470, 678], θα περιμέναμε να συνδυάζεται και με μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που χρησιμοποιούν ορμονική θεραπεία. Εντούτοις, η χρήση της ορμονικής θεραπείας στην πρωτογενή και δευτερογενή καρδιαγγειακή πρόληψη σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν συστήνεται σήμερα με βάση τα αποτελέσματα των μεγάλων τυχαίοποιημένων κλινικών μελετών, στις οποίες η χορήγηση ορμονικής θεραπείας δεν έδειξε κανένα όφελος στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου [2, 577]. Πρόσφατα, η επανεκτίμηση των αποτελεσμάτων των μελετών αυτών έχει οδηγήσει την επιστημονική κοινότητα μπροστά σε κάποια ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της ορμονικής θεραπείας: σε ποιες γυναίκες; πότε; ποια οδός χορήγησης; ποιο προγεσταγόνο; Φαίνεται επίσης ότι οι επιδράσεις των χορηγούμενων ορμονών είναι διαφορετικές ανάλογα με

την υποκείμενη αγγειακή παθολογία [373, 466, 467, 470, 579, 581, 678]. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας σε ηλικιωμένες εμμηνόπαυσιες γυναίκες (>60 ετών) με γνωστή εγκατεστημένη αθηρωματική νόσο ή υψηλό κίνδυνο προχωρημένης αθηρωμάτωσης (όπως οι πληθυσμοί των τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών) δεν είναι αποτελεσματική στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου [469, 546, 559, 569], ενώ οι προ-φλεγμονώδεις και προ-θρομβωτικές δράσεις των οιστρογόνων μπορεί να ευνοούν ακόμη και την αύξηση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων [466, 582]. Αντιθέτως, σε νεότερες γυναίκες, πιο πρώιμα στην εμμηνόπαυση, χωρίς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου διαπιστώνεται ότι η χορήγηση οιστρογόνων προλαμβάνει την εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωμάτωσης [335, 502, 523] και μπορεί να σχετίζεται με μείωση των μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβάντων [566, 568, 584]. Επιπλέον, η επιλογή του οιστρογόνου, του προγεσταγόνου και της οδού χορήγησης φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στις καρδιαγγειακές επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας. Τα σχήματα που περιλαμβάνουν 17β-οιστραδιόλη, διαδερμική χορήγηση ορμονών και κυκλική χορήγηση προγεστερόνης σχετίζονται με καλύτερη καρδιαγγειακή πρόγνωση και λιγότερες παρενέργειες (προ-φλεγμονώδεις και προ-θρομβωτικές δράσεις) σε σύγκριση με τη χρήση από του στόματος θεραπείας με συζευγμένα οιστρογόνα ίππου και άλλα γνωστά προγεσταγόνα, όπως η οξική μεδροξυπρογεστερόνη [461, 462, 558, 595-597, 604, 605, 655].

11.4 Αγγειοκινητικά εμμηνόπαυσιικά συμπτώματα και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Οι εξάψεις για πολύ καιρό θεωρούνταν ως ένα σύμπτωμα το οποίο επηρεάζει κυρίως την ποιότητα ζωής των γυναικών χωρίς καμιά άλλη κλινική σημασία. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι πιθανόν να αποτελεί έναν δείκτη αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου.

Στην παρούσα μελέτη η παρουσία και η βαρύτητα των εξάψεων σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης αποτελούσαν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αγγειακής φλεγμονής, ενώ σχετίζονταν και με μειωμένα επίπεδα υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης στις γυναίκες. Στο παρελθόν, η παρουσία εξάψεων σε περιεμμηνόπαυσιες και εμμηνόπαυσιες γυναίκες έχει συσχε-

τιστεί με αυξημένο σωματικό βάρος [679, 680], κεντρική παχυσαρκία [681], αύξηση της αρτηριακής πίεσης [679, 680, 682] και της ολικής χοληστερόλης [679, 680] και μείωση της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών [668]. Παράλληλα οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με εξάψεις κατά την εμμηνόπαυση παρουσιάζουν αύξηση των επιπέδων οξειδωτικού stress [683] και αγγειακής φλεγμονής [668], μείωση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής [684] και αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων [685] και της εναπόθεσης ασβεστίου στην αορτή [684]. Ωστόσο, υπάρχουν και μελέτες που δεν δείχνουν καμιά συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας ή της βαρύτητας των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων και των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου ή της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες [686-688].

Σε δυο μεγάλες πληθυσμιακές καταγραφές (>10,000 σχετικά υγιείς γυναίκες, μέση ηλικία 53 ετών) με παρακολούθηση περίπου 10 ετών στην εμμηνόπαυση η παρουσία αγγειοκινητικών συμπτωμάτων κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση σχετίστηκε με μέτρια αύξηση του μελλοντικού κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (περίπου 25 %) σε σύγκριση με τις γυναίκες που δεν είχαν συμπτώματα [689]. Στην αναδρομική μελέτη Rancho Bernardo Study (N = 867, 11.5 έτη παρακολούθησης), βρέθηκε ότι ηλικιωμένες γυναίκες χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο που ανέφεραν ότι είχαν εξάψεις κάποια στιγμή στην εμμηνόπαυση παρουσίαζαν μικρότερη ολική καρδιαγγειακή και καρδιακή θνητότητα σε σύγκριση με γυναίκες που δεν ανέφεραν εξάψεις [690]. Αντίστοιχα, στη μελέτη WHI η εμφάνιση αγγειοκινητικών συμπτωμάτων πρώιμα στην εμμηνόπαυση σχετίζονταν με μείωση του κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάντα καθώς και μείωση της ολικής θνητότητας [691] καθώς και μειωμένη εναπόθεση ασβεστίου στα στεφανιαία αγγεία (δείκτης υποκλινικής αθηρωμάτωσης) [692] σε σχέση με την απουσία των συμπτωμάτων. Ωστόσο, στη μελέτη WHI και σε αντίστοιχους πληθυσμούς υγιών ηλικιωμένων εμμηνοπαυσιακών γυναικών, οι οποίοι μελετώνται 10-15 έτη από την εμμηνόπαυση το ιστορικό της παρουσίας αγγειοκινητικών συμπτωμάτων (ιδίως πρώιμα στην εμμηνόπαυση) ίσως αποτελεί έναν έμμεσο δείκτη της μακρόχρονης χορήγησης και των επιδράσεων της ορμονικής θεραπείας και επομένως τα αποτελέσματα που βλέπουμε επηρεάζονται από την αλληλεπίδραση της παρουσίας συμπτωμάτων και της χορήγησης ορμονικής θεραπείας σε αυτές τις γυναίκες [690-692]. Εξάλλου, η παρουσία των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων όψιμα στην εμμηνόπαυση (δηλαδή γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία πρώιμα στην εμμηνόπαυση αλλά μετά από αρκετά χρόνια) στη μελέτη WHI συνδέονταν με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σύγκριση με την απουσία συμπτωμάτων [691].

Δεδομένης της συσχέτισης της παρουσίας και βαρύτητας των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων με δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στη βασική μελέτη θα αναμέναμε η βελτίωση των συμπτωμάτων να παρουσιάζει μια αντίστοιχη συσχέτιση με τη βελτίωση των δεικτών αυτών με την ορμονική θεραπεία. Ωστόσο ούτε η βελτίωση των συμπτωμάτων, ούτε η βαρύτητα των συμπτωμάτων στην αρχή προέβλεπαν την απάντηση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στη χορήγηση ορμονικής θεραπείας. Πρόσφατες μελέτες δεν έδειξαν καμιά συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας εξάψεων σε υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης και της επίδρασης της ορμονικής θεραπείας σε δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας [693] και αγγειακής φλεγμονής [694]. Ωστόσο, στη μελέτη HERS, σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες με γνωστή στεφανιαία νόσο οι οποίες αναφέρουν κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα, η χορήγηση ορμονικής θεραπείας αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης νέων στεφανιαίων συμβάντων κατά το πρώτο έτος θεραπείας σε σύγκριση με τις γυναίκες που δεν παρουσίαζαν συμπτώματα [695]. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι οι γυναίκες αυτές ανέφεραν την παρουσία αγγειοκινητικών συμπτωμάτων κατά την είσοδό τους στη μελέτη (περίπου 10-15 έτη μετά την εμμηνόπαυση) και όχι αν είχαν στο παρελθόν με αποτέλεσμα να είναι πολύ μικρός ο αριθμός των γυναικών με κλινικά σημαντικά συμπτώματα και στεφανιαία συμβάντα (v=11) κάτι που περιορίζει σημαντικά τη δύναμη της μελέτης για ασφαλή συμπεράσματα. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι σε αγγεία με εγκατεστημένη αθηρωμάτωση η χορήγηση οιστρογόνων μπορεί να λειτουργήσει προ-αθηρωματικά και να οδηγήσει στην αποσταθεροποίηση αθηρωματικών πλακών και την εμφάνιση νέων στεφανιαίων συμβαμάτων [373, 466]. Η συνοδός παρουσία αγγειοκινητικών συμπτωμάτων, δεδομένης της συσχέτισης με επιδεινωμένη ενδοθηλιακή λειτουργία [684], θα μπορούσε ενδεχομένως να ενισχύσει την προ-αθηρωματική δράση των οιστρογόνων σε αυτή την περίπτωση.

Παρά το γεγονός ότι η συσχέτιση των αγγειοκινητικών εμμηνόπαυσιακών συμπτωμάτων με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο είναι μια υπόθεση που συνεχώς κερδίζει έδαφος τα τελευταία 3-4 έτη, δεν είναι γνωστό ακόμη αν οι εξάψεις είναι απλώς ένας δείκτης ή συμμετέχουν αιτιολογικά στην αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου των εμμηνόπαυσιακών γυναικών. Η συμμετοχή του αυτόνομου νευρικού συστήματος ως ενδιάμεσος κρίκος στη σύνδεση των εξάψεων με τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο θεωρήθηκε πιθανή λόγω της αύξησης του καρδιακού ρυθμού, της αύξησης της θερμοκρασίας και της εφίδρωσης κατά τη διάρκεια των εξάψεων (σημεία αυξημένης δραστηριότητας συμπαθητικού συστήματος) [696]. Η κεντρική ενεργοποίηση του αδρενεργικού συστήματος [697]

και η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων επινεφρίνης κατά τη διάρκεια των εξάψεων [267] συνηγορούν υπέρ της αύξησης της δραστηριότητας του συμπαθητικού συστήματος σε γυναίκες με εξάψεις κάτι που μπορεί να σχετίζεται με αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου [698]. Εντούτοις, υπάρχουν λίγες κλινικές μελέτες που να επιβεβαιώνουν τη συμμετοχή του περιφερικού συμπαθητικού συστήματος στην εμφάνιση των εξάψεων [271]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι κατά τη διάρκεια των εξάψεων μειώνεται ο τόνος του παρασυμπαθητικού συστήματος σε σχέση με το χρονικό διάστημα πριν ή μετά το πέρας των εξάψεων [270]. Η μείωση του τόνου του παρασυμπαθητικού συστήματος έχει επίσης συσχετιστεί με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [699, 700], ενώ φαίνεται να προηγείται άμεσα χρονικά της εμφάνισης οξέων στεφανιαίων συμβαμάτων σε άντρες [701]. Τα αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης σε γυναίκες με αγγειοκινητικά συμπτώματα [702] θεωρούνται ως ένας ακόμη πιθανός ενδιάμεσος κρίκος μεταξύ της παρουσίας εξάψεων και επιδείνωσης παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης με εξάψεις τα αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης σχετίζονται άμεσα με αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη και μειωμένα επίπεδα υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης [703].

Από την άλλη, δεδομένου της έλλειψης μιας ισχυρής αιτιολογικής σύνδεσης μεταξύ αγγειοκινητικών εμμηνόπαυσιακών συμπτωμάτων και καρδιαγγειακού κινδύνου είναι πιθανόν η εμφάνιση των εξάψεων στις γυναίκες να αποτελεί έναν φυσικό μηχανισμό άμυνας του οργανισμού ο οποίος αντιλαμβάνεται την ευαισθησία ορισμένων γυναικών για αυξημένο μακροπρόθεσμο καρδιαγγειακό κίνδυνο ως αποτέλεσμα της απώλειας των ενδογενών οιστρογόνων. Αυτές οι γυναίκες θα μπορούσαν ίσως να επωφεληθούν από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας πρώιμα στην εμμηνόπαυση για τη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου, ενώ παράλληλα να γίνεται και καλύτερος έλεγχος των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου στα πλαίσια της πρωτογενούς καρδιαγγειακής πρόληψης.

11.5 Οιστρογονικοί υποδοχείς και καρδιαγγειακό σύστημα – Ρόλος των πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων

Οι οιστρογονικοί υποδοχείς α και β αποτελούν τους κύριους μεσολαβητές των δράσεων των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα. Θεωρήθηκε, λοιπόν, ότι οι πολυμορφισμοί των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων, τροποποιώντας τη δράση των οι-

στρογόνων στα κύτταρα του καρδιαγγειακού συστήματος, θα μπορούσε να σχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο και διαφορές στις καρδιαγγειακές δράσεις της ορμονικής θεραπείας στις γυναίκες. Τα τελευταία περίπου 10 χρόνια έχει ερευνηθεί εκτενώς η σημασία των γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων α και β και έχουν βρεθεί αρκετοί μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (single nucleotide polymorphisms, *SNPs*) οι οποίοι πιθανολογείται ότι σχετίζονται με μεταβολές στις δράσεις των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα. Οι διάφοροι πολυμορφισμοί είτε προκαλούν άμεσα μεταβολές στην έκφραση και λειτουργικότητα των αντίστοιχων πρωτεϊνών ή αποτελούν 'δείκτες' άλλων σημαντικών πολυμορφισμών με τους οποίους βρίσκονται σε ανισοποιοί σύνδεση. Οι σημαντικότεροι και πιο καλά μελετημένοι είναι οι πολυμορφισμοί *PvuII 454-397 T>C* και *XbaI 454-351 A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα α και ο πολυμορφισμός *AluI 1730 A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα β .

Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε καμιά συσχέτιση μεταξύ αυτών των γενετικών πολυμορφισμών και των δεικτών αγγειακής λειτουργίας (ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτίδων) και φλεγμονής σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης. Θεωρήσαμε ότι η επίδραση των πολυμορφισμών αυτών (αν όντως υπάρχει) θα ήταν πιο προφανής στον πληθυσμό της μελέτης μας (σχετικά νέες και υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης) στον οποίο οι ισχυρές επιδράσεις της ηλικίας, της συσσώρευσης πολλών καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου και της μακρόχρονης απώλειας των ενδογενών οιστρογόνων στην αγγειακή λειτουργία δεν είναι ακόμη εμφανείς. Αντιθέτως, η παρουσία των μη αγρίου τύπου αλληλίων στους πολυμορφισμούς *XbaI 454-351 A>G* (ομοζυγώτες GG) και *AluI 1730 A>G* (παρουσία G αλληλίου) των οιστρογονικών υποδοχέων α και β αντίστοιχα συνοδεύονταν από υψηλότερες τιμές τριγλυκεριδίων και αρτηριακής πίεσης. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των διαφόρων γονοτύπων ήταν μάλλον μικρές και πιθανόν χωρίς κάποια κλινική σημασία καθώς τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της συστολικής αρτηριακής πίεσης βρίσκονταν εντός φυσιολογικών ορίων σε όλες τις υποομάδες γονοτύπων. Η έλλειψη σχέσης μεταξύ των μελετώμενων πολυμορφισμών του οιστρογονικού υποδοχέα α και της ενδοθηλιακής λειτουργίας έχει βρεθεί και σε παλαιότερη μεγαλύτερη μελέτη σε μικτό όμως πληθυσμό ηλικιωμένων αντρών και γυναικών [704], ενώ σε μια μόνο μικρή μελέτη εμμηνόπαυσιακών γυναικών (N=64) οι ομοζυγώτες *PvuII TT* και *XbaI AA* παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 [633]. Ο πολυμορφισμός *AluI 1730 A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα β δεν έχει μελετηθεί ποτέ ξανά σε σχέση με την ενδοθηλιακή λειτουργία ή την αγγειακή

φλεγμονή σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Επιπλέον, οι συσχετίσεις των γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων με τα επίπεδα διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου εμφανίζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, ενώ δεν είναι ξεκάθαρο σε κάθε πολυμορφισμό ποιο αλληλίο σχετίζεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [631-633, 642, 651-653]. Εντούτοις, νεότερες και μεγαλύτερες μελέτες υποδεικνύουν πως μάλλον δεν υπάρχει κάποια σημαντική επίδραση των πολυμορφισμών αυτών (κυρίως του οιστρογονικού υποδοχέα α) στην καρδιαγγειακή πρόγνωση [622, 639-643].

Σε αντίθεση με την έλλειψη οποιασδήποτε σχέσης των μελετώμενων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων με την εξέλιξη της υποκλινικής αθηρωμάτωσης σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης, είναι πιθανόν οι πολυμορφισμοί αυτοί να είναι πιο σημαντικοί στην τροποποίηση των επιδράσεων των οιστρογόνων (με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας) στην ενδοθηλιακή λειτουργία και την αγγειακή φλεγμονή στις γυναίκες αυτές. Γυναίκες ομοζυγώτες στα μη αγρίου τύπου αλληλία των μελετώμενων γενετικών πολυμορφισμών παρουσίαζαν μικρότερη βελτίωση (ή και επιδείνωση) των δεικτών αγγειακής λειτουργίας (ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) και φλεγμονής (μόριο sCD40L) μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες σε σύγκριση με γυναίκες που είχαν τουλάχιστον ένα αλληλίο αγρίου τύπου. Επιπλέον, η παρουσία των γονοτύπων *XbaI GG* και *AluI GG* των οιστρογονικών υποδοχέων α και β αποτελούσαν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες των μεταβολών στο μόριο sCD40L και της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής αντίστοιχα με την ορμονική θεραπεία. Επιπλέον, ο γονότυπος *AluI GG* του οιστρογονικού υποδοχέα β σχετίζεται με ουδέτερη επίδραση της ορμονικής θεραπείας στα επίπεδα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης ενώ η παρουσία τουλάχιστον ενός *AluI A* αλληλίου οδηγεί σε σαφή μείωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης με την ορμονική θεραπεία.

Παλαιότερες μελέτες ανέδειξαν μια σημαντική συσχέτιση των επιδράσεων της ορμονικής θεραπείας σε παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής με το γονότυπο του πολυμορφισμού *PvuII T>C* του οιστρογονικού υποδοχέα α και σε μικρότερο βαθμό με τον πολυμορφισμό *XbaI A>G* όπως στην παρούσα μελέτη [626, 627, 644]. Η σχετική σημασία των δυο αυτών πολυμορφισμών δεν μπορεί να διευκρινιστεί καθώς βρίσκονται σε ανισοποιοί σύνδεση μεταξύ τους. Επιπλέον, στις μελέτες αυτές, σε αντίθεση με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, οι γυναίκες που ήταν ομόζυγες στο αλληλίο *PvuII C* του συγκεκριμένου πολυμορφισμού παρουσίαζαν μεγαλύτερη βελτίωση στην ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή [644], τη χοληστερόλη

υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών [626] και την Ε-Σελεκτίνη [627] με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας. Υποστηρίχτηκε μάλιστα η θεωρία ότι η παρουσία του *PvuII C* αλληλίου δημιουργούσε μια θέση πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων στο γονίδιο του οιστρογονικού υποδοχέα α με αποτέλεσμα την αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου και της έκφρασης της πρωτεΐνης του υποδοχέα [627]. Αυτή η επίδραση ίσως είναι επωφελής σε πληθυσμούς ηλικιωμένων εμμηνοπαυσιακών γυναικών με γνωστή αθηρωματική νόσο, στους οποίους αναμένεται η παρουσία περιορισμένου αριθμού λειτουργικών οιστρογονικών υποδοχέων εξαιτίας της μακροχρόνιας απώλειας των ενδογενών οιστρογόνων και της αυξημένης μεθυλίωσης των γονιδίων των οιστρογονικών υποδοχέων [415, 705]. Ωστόσο, είναι πιθανόν η επίδραση αυτή να μην είναι σημαντική στην περίπτωση νεότερων υγιών εμμηνοπαυσιακών γυναικών οι οποίες διαθέτουν αρκετούς λειτουργικούς υποδοχείς, όπως στην παρούσα μελέτη. Την άποψη αυτή υποστηρίζουν τα ευρήματα μιας πρόσφατης μελέτης σε νέες υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις οποίες η χορήγηση ορμονικής θεραπείας βελτίωσε τα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης περισσότερο σε γυναίκες με το γονότυπο *PvuII TT*, υποδεικνύοντας ως αλληλίο αυξημένου κινδύνου (risk allele) το αλληλίο *PvuII C* [645]. Επιπροσθέτως, υπάρχουν και μελέτες οι οποίες δεν δείχνουν καμιά συσχέτιση των πολυμορφισμών *PvuII T/C* και *XbaI A/G* με την επίδραση της ορμονικής θεραπείας στα επίπεδα των λιπιδίων, της Ε-Σελεκτίνης, των μεταλλοπρωτεϊνών, της ομοκυστεΐνης, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, του ινωδογόνου, και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 [642, 646]. Σε αυτές τις μελέτες, εκτός των επιδράσεων της προχωρημένης ηλικίας και της παρουσίας αθηρωμάτωσης στους πληθυσμούς των οιστρογονικών υποδοχέων (όπως αναφέρθηκε παραπάνω) των γυναικών που συμμετείχαν θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι το βασικό σχήμα ορμονικής θεραπείας ήταν τα συζευγμένα οιστρογόνα ίππου τα οποία περιέχουν ουσίες με απρόβλεπτες και μάλλον ασθενείς ιδιότητες σύνδεσης με τους οιστρογονικούς υποδοχείς, σε αντίθεση με την 17 β -οιστραδιόλη που είναι ο πιο ισχυρός αγωνιστής και των δυο οιστρογονικών υποδοχέων. Ίσως είναι αναμενόμενες λοιπόν οι διαφορές στην επίδραση των γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων ανάλογα με το οιστρογόνο που χρησιμοποιείται στην κάθε μελέτη. Παράλληλα, σε καμιά μελέτη δεν λαμβάνεται υπόψη και ο ρόλος του νεότερου διαμεμβρανικού οιστρογονικού υποδοχέα συνδεδεμένου με G πρωτεΐνη στη μεσολάβηση των οιστρογονικών δράσεων στο καρδιαγγειακό σύστημα, καθώς είναι γνωστό ότι ενεργοποιείται μόνο μετά τη χορήγηση οιστραδιόλης και όχι άλλων ασθενέστερων οιστρογόνων, όπως η οιστρόνη ή η οιστραδιόλη [365].

Η σχέση των επιδράσεων της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα με γενετικούς πολυμορφισμούς του οιστρογονικού υποδοχέα β είναι λιγότερο καλά μελετημένη. Ο πολυμορφισμός *AluI 1730 A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα β δεν συμπεριλαμβάνονταν στην ανάλυση των περισσότερων από των παραπάνω αναφερθέντων μελετών. Σε σχετικά υγιείς εμμηνόπαυσιακές γυναίκες ο γονότυπος *AluI GG* συνδέονταν με μείωση των λιπιδίων μετά τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη) [646], ενώ σε υποανάλυση της μελέτης WHI δεν αναδείχθηκε καμιά συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με την επίδραση της ορμονικής θεραπείας στα λιπίδια, σε δείκτες αγγειακής φλεγμονής και θρόμβωσης [642]. Όπως και παραπάνω για την ορθή ερμηνεία των ευρημάτων αυτών θα πρέπει να ληφθεί υπόψη η μεγάλη ηλικία και ο αυξημένος κίνδυνος αθηρωμάτωσης των γυναικών που συμμετείχαν [642] καθώς και τα χρησιμοποιούμενα σχήματα ορμονικής θεραπείας [642, 646].

Σε κάθε περίπτωση τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αναφορικά με τη σχέση των γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και τις δράσεις της ορμονικής θεραπείας θα πρέπει να επαληθευτούν σε μεγαλύτερες πληθυσμιακές μελέτες με αντίστοιχο σχεδιασμό. Γενικά, οι αναλύσεις γενετικών συσχετίσεων (genetic association studies) απαιτούν πολύ μεγάλα δείγματα, ανάλογα βέβαια και με την επίπτωση του κάθε μελετώμενου πολυμορφισμού, για την καλύτερη αντιπροσώπευση του γενικού πληθυσμού.

11.6 Συμπεράσματα

Επιγραμματικά η παρούσα μελέτη έδειξε ότι :

- Υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης (<55 ετών και <3 έτη σε εμμηνόπαυση) παρουσιάζουν δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου (μειωμένη ροοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) χωρίς ταυτόχρονη εμφάνιση και δομικών αθηρωματικών αλλοιώσεων (πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων) σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες.
- Οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν επίσης αύξηση των δεικτών υποκλινικής αγγειακής φλεγμονής (sCD40L και P-Σελεκτίνη) σε σχέση με υγιείς προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες.

- Η επιδείνωση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης μπορεί να σχετίζεται με αύξηση του αθηρωματικού κινδύνου και επιδείνωση της μακροπρόθεσμης καρδιαγγειακής πρόγνωσης.
- Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι οποίες παρουσίαζαν αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα (εξάψεις-εφιδρώσεις) και κυρίως οι γυναίκες με κλινικά σημαντικά συμπτώματα εμφάνιζαν πιο σημαντική ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και υψηλότερα επίπεδα δεικτών φλεγμονής σε σύγκριση με γυναίκες χωρίς ή ήπια συμπτώματα.
- Η βραχυχρόνια (3μηνη) χορήγηση διαδερμικής 17β-οιστραδιόλης με ταυτόχρονη κυκλική χορήγηση προγεστερόνης από το στόμα οδήγησε σε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αγγειακής φλεγμονής κάτι που μπορεί να μεταφράζεται και ως καλύτερη καρδιαγγειακή πρόγνωση μακροπρόθεσμα.
- Οι γενετικοί πολυμορφισμοί *PvuII 454-397 T>C* και *XbaI 454-351 A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα α και ο πολυμορφισμός *AluI 1730 A>G* του οιστρογονικού υποδοχέα β δεν σχετίζονται με τα επίπεδα των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες αλλά φαίνεται ότι επηρεάζουν τις μεταβολές των δεικτών αυτών μετά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας με οιστρογόνα. Η παρουσία των μη αγρίου τύπου αλληλίων στους μελετώμενους γενετικούς πολυμορφισμούς σχετίστηκε με αδυναμία της ορμονικής θεραπείας να βελτιώσει τη ροο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και τα επίπεδα του μορίου sCD40L.
- Οι γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης με αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα πιθανόν να αποτελούν την ομάδα εμμηνοπαυσιακών γυναικών που αναμένεται να αποκομίσουν τα μέγιστα καρδιαγγειακά οφέλη από τη χρήση ορμονικής θεραπείας. Η παρουσία συγκεκριμένων γονοτύπων των οιστρογονικών υποδοχέων α και β σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της ορμονικής θεραπείας στη βελτίωση δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Επίδραση εμμηνόπαυσης και ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης
σε δείκτες αγγειακής λειτουργιάς και φλεγμονής–
Ρόλος γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων**

**Άρης Μπεχλιούλης
Διδακτορική διατριβή**

Υπάρχουσα γνώση – Σκοπός μελέτης. Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την πρωταρχική αίτια θανάτου στις γυναίκες στο δυτικό κόσμο. Η αθηροσκλήρωση, η οποία αποτελεί το υποκείμενο υπόστρωμα στην πλειονότητα των καρδιαγγειακών νοσημάτων, θεωρείται ως μια μορφή χρόνιας φλεγμονώδους διεργασίας του αγγειακού τοιχώματος. Η δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και η αγγειακή φλεγμονή εμφανίζονται πρώιμα στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και η ανίχνευσή τους μέσω προσδιορισμού καθιερωμένων μη επεμβατικών δεικτών μπορεί να βοηθήσει στην εκτίμηση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης. Η αύξηση της επίπτωσης των καρδιαγγειακών νοσημάτων στις γυναίκες φαίνεται να συμπίπτει χρονικά με τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση και έχει αποδοθεί στην απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων. Οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν αυξημένη επίπτωση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και αύξηση δεικτών αγγειακής φλεγμονής σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς να είναι ξεκάθαρο αν οι μεταβολές αυτές οφείλονται στην εμμηνόπαυση *per se* ή στην ταυτόχρονη αύξηση της ηλικίας.

Τα οιστρογόνα παρουσιάζουν αρκετές αντιαθηρογόνες ιδιότητες μέσω των γενωμικών και μη γενωμικών δράσεών τους στα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων με τη μεσολάβηση των οιστρογονικών υποδοχέων. Η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχει συσχετιστεί με βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αγγειακής φλεγμονής αλλά τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών χορήγησης ορμονικής θεραπείας για την καρδιαγγειακή πρόληψη (πρωτογενή ή δευτερογενή) δεν επιβεβαιώνουν την αναμενόμενη καρδιοπροστατευτική της δράση. Φαίνεται ότι η δράση της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως ο χρόνος χορήγησης των ορμονών, η παρουσία προχωρημένης αθηροσκλήρωσης στα αγγεία, το είδος, η δοσολογία και η οδός χορήγησης των οιστρογόνων καθώς η συγχορήγηση προγεσταγόνων. Επιπλέον, η παρουσία συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων, οι οποίοι τροποποιούν πιθανώς

τις δράσεις των οιστρογόνων σε μοριακό επίπεδο, μπορεί να επηρεάζει τις δράσεις των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα.

Σκοποί της παρούσας εργασίας ήταν 1) η διερεύνηση της επίδρασης της εμμηνόπαυσης σε δείκτες υποκλινικής αθηροσκλήρωσης (αγγειακή λειτουργία και φλεγμονή) σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες και 2) η μελέτη της επίδρασης της βραχύχρονης χορήγησης ορμονικής θεραπείας στους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης. Παράλληλα αναζητήθηκαν συσχετίσεις γνωστών γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων με τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες αλλά και την επίδραση της ορμονικής θεραπείας σε αυτούς τους δείκτες.

Υλικό – Μέθοδοι. Στη μελέτη συμμετείχαν 120 υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης (<3 έτη στην εμμηνόπαυση και <55 ετών) και 24 υγιείς προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (ομάδα ελέγχου) χωρίς γνωστό καρδιαγγειακό νόσημα στο ιστορικό ή φαρμακευτική αγωγή που να σχετίζεται με το καρδιαγγειακό σύστημα. Σε όλες τις γυναίκες (εμμηνόπαυσιακές και προεμμηνόπαυσιακές) πραγματοποιούνταν υπερηχογραφική μελέτη των δεικτών υποκλινικής αθηροσκλήρωσης των αγγείων και προσδιορισμός γνωστών δεικτών αγγειακής φλεγμονής και γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων (βασική μελέτη). Οι εμμηνόπαυσιακές γυναίκες που παρουσίαζαν κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα (89 γυναίκες) συμμετείχαν περαιτέρω στη μελέτη παρέμβασης με τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας (διαδερμική χορήγηση 17β-οιστραδιόλης 50 mcg/ημέρα με την προσθήκη 200mg προγεστερόνης από το στόμα για τις τελευταίες 12 ημέρες ενός 28ήμερου κύκλου) για 3 μήνες. Από τις 89 εμμηνόπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα, οι 40 συναίνεσαν στη λήψη ορμονικής θεραπείας ενώ άλλες 44 γυναίκες συμφώνησαν σε επανέλεγχο στους 3 μήνες χωρίς καμιά παρέμβαση. Στους 3 μήνες οι γυναίκες υποβάλλονταν εκ νέου σε προσδιορισμό των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Η μελέτη των αγγείων περιελάμβανε τον υπερηχογραφικό προσδιορισμό της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης (ροο-εξαρτώμενης) και μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενης (νιτρωδο-εξαρτώμενης) αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας και του πάχους έσω-μέσου χιτώνα των κοινών καρωτίδων. Οι δείκτες αγγειακής φλεγμονής που προσδιορίστηκαν ήταν το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1, η P-Σελεκτίνη, το μόριο sCD40L και η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη. Τέλος, πραγματοποιήθηκε η ανίχνευση των γονοτύπων των γενετικών πολυμορφισμών rs2234693 (επίσης γνωστός ως *PvuII* 454-397T>C) και rs9340799 (επίσης γνωστός ως *XbaI* 454-351A>G) του οιστρογο-

νικού υποδοχέα α και rs4986938 (επίσης γνωστός ως *AluI G1730A*) του οιστρογονικού υποδοχέα β με το συνδυασμό της μεθόδου αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης και της εφαρμογής των περιοριστικών ενζύμων για τον καθορισμό των πολυμορφισμών μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων (restriction fragment length polymorphisms, *RFLPs*).

Αποτελέσματα. Βασική μελέτη - Υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης, σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, παρουσιάζουν μειωμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία χωρίς να παρατηρείται καμιά διαφορά στο πάχος έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτιδών. Επιπλέον οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν αύξηση δεικτών αγγειακής φλεγμονής όπως η P-Σελεκτίνη και το μόριο sCD40L. Τα αγγειοκινητικά συμπτώματα (εξάψεις και εφιδρώσεις) είναι τα πιο συχνά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα και αποτελούν σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής. Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά συμπτώματα (τουλάχιστον μέτριας βαρύτητας) παρουσίαζαν μειωμένη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή σε σχέση με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ήπια ή καθόλου συμπτώματα αλλά και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Επιπροσθέτως η παρουσία έστω και ήπιων αγγειοκινητικών συμπτωμάτων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετιζόνταν με αυξημένα επίπεδα της P-Σελεκτίνης και του μορίου sCD40L σε σχέση με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς συμπτώματα ή προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Άλλοι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής ήταν η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος, η χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, τα τριγλυκερίδια και η συστολική αρτηριακή πίεση. Οι μελετώμενοι γενετικοί πολυμορφισμοί των οιστρογονικών υποδοχέων α και β δεν σχετιζόνταν με τα επίπεδα δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες αλλά σχετιζόνταν μόνο με τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και των τριγλυκεριδίων.

Μελέτη παρέμβασης – Οι ομάδες των γυναικών που έλαβαν ή δεν έλαβαν ορμονική θεραπεία δεν διέφεραν μεταξύ τους πριν την έναρξη της θεραπείας. Η χορήγηση διαδερμικής ορμονικής θεραπείας για 3 μήνες σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλινικά σημαντικά αγγειοκινητικά συμπτώματα βελτίωσε την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή στη βραχιόνια αρτηρία και μείωσε τα επίπεδα δεικτών αγγειακής φλεγμονής (διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1, P-Σελεκτίνη και μόριο sCD40L) σε σύγκριση με εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν έλαβαν ορμονικής θεραπεία. Επιπλέον η ορμονική θεραπεία επέφερε σημαντικές μειώσεις στα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά από τις μεταβολές που

παρατηρήθηκαν στις γυναίκες που δεν έλαβαν θεραπεία. Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας επανέφερε στο φυσιολογικό τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες όταν συγκρίνονταν με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η βελτίωση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής με την ορμονική θεραπεία εξαρτιόνταν από την παρουσία συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφισμών των οιστρογονικών υποδοχέων και από τη μείωση της αρτηριακής πίεσης και της χοληστερόλης που επέφερε η ορμονική θεραπεία. Εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχαν τα αλληλία *XbaI A* και *AluI A* παρουσίαζαν βελτίωση των επιπέδων του sCD40L και της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία αντίστοιχα μετά από τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας, σε σύγκριση με γυναίκες που δεν έφεραν τα συγκεκριμένα αλληλία.

Συμπεράσματα. Υγιείς γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης παρουσιάζουν επιδείνωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και αύξηση δεικτών αγγειακής φλεγμονής χωρίς ταυτόχρονη αύξηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα κοινών καρωτίδων (υποκλινική δομική αθηρωματική νόσος) σε σύγκριση με ίδιας ηλικίας προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η επιδείνωση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε αυτές τις γυναίκες μπορεί να σχετίζεται με αύξηση του αθηρωματικού κινδύνου και επιδείνωση της μακροπρόθεσμης καρδιαγγειακής πρόγνωσης. Η παρουσία και η αυξημένη βαρύτητα αγγειοκινητικών συμπτωμάτων σχετίζεται με την επιδείνωση των δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής σε γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης και ενδεχομένως αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου. Η βραχύχρονη χορήγηση διαδερμικής ορμονικής θεραπείας οδήγησε σε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αγγειακής φλεγμονής στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες κάτι που μπορεί να μεταφράζεται και ως καλύτερη καρδιαγγειακή πρόγνωση μακροπρόθεσμα. Οι γυναίκες πρόσφατης εμμηνόπαυσης με αγγειοκινητικά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα πιθανόν να αποτελούν την ομάδα εμμηνοπαυσιακών γυναικών που αναμένεται να αποκομίσουν τα μέγιστα καρδιαγγειακά οφέλη από τη χρήση ορμονικής θεραπείας. Η παρουσία συγκεκριμένων γονοτύπων των οιστρογονικών υποδοχέων α και β σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της ορμονικής θεραπείας στη βελτίωση δεικτών αγγειακής λειτουργίας και φλεγμονής.

SUMMARY

Effect of menopause and hormone replacement therapy on vascular function and inflammation indices – Role of estrogen receptor gene polymorphisms

Aris Bechlioulis
Doctorate thesis

Background – Aim. Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of morbidity and mortality in women in western world. Women tend to develop CVD approximately 10 years later than men and CVD incidence in women increases after menopause. The effect of various established cardiovascular risk factors on cardiovascular risk is quite different in women compared to men while there is also a difference in secondary prognosis following a cardiovascular event between men and women.

Atherosclerosis, the main pathological substrate of the majority CVD in both men and women, is considered to be a chronic inflammatory process of the vascular wall. Various inflammatory molecule including adhesion molecules, soluble CD40L, interleukins etc are known to mediate all stages of atherosclerosis. Impairment of endothelial function is also present early in the atherosclerotic process and is related to the reinforcement of the proatherogenic environment in the vessel wall leading ultimately to the formation and rupture of atherosclerotic plaques. Endothelial dysfunction and vascular inflammation can be detected non invasively long before the occurrence of structural vascular lesions and have been shown to correlate with cardiovascular prognosis.

Menopause is the permanent cessation of menses in women and occurs around the age of 50 years leaving women in postmenopausal status for approximately one third of their lives. The increase in CVD incidence after menopause has been related to changes in cardiovascular risk factors and endothelial function during menopausal transition and has been attributed to the loss of the protective antiatherogenous effects of endogenous estrogen. However, it is not clear whether the observed changes are a consequence of menopause *per se* or aging of menopausal women.

Estrogen exert their actions in the cardiovascular system through activation of estrogen receptor (ER) mediated genomic and non genomic pathways in endothelial and smooth muscle cells of the vascular wall. Exogenous estrogen administration as a part of hormone replacement therapy (HRT) is related to several antiatherogenic actions including improve-

ment of lipid profile and amelioration of endothelial function and vascular inflammation in menopausal women. However, clinical studies of HRT in primary and secondary cardiovascular prevention have shown conflicting. It is suggested that the effects of exogenous estrogen administration depend on various factors such as the timing of administration (early vs late menopause), the presence of atherosclerosis, the type, dose and route of estrogen used and progestogen administration. Furthermore, recent studies have underlined the impact of genetic polymorphisms of ER α and β in modulating estrogen actions in cells and thus affecting hormone therapy's cardiovascular effects.

The aims of the present study were 1) to investigate the effects of menopausal transition on subclinical atherosclerosis (vascular function and inflammation) indices in early menopausal women compared to age-matched premenopausal women, as well as to find prognostic factors of these indices in menopausal women, and 2) to determine the effects of short-term HRT on vascular function and inflammation indices in early menopausal women. Furthermore, we searched for potential relationships between common genetic polymorphisms of estrogen receptor polymorphisms and subclinical atherosclerosis indices in menopausal women as well as the effects of hormone therapy on these indices.

Materials – Methods. We enrolled 120 healthy early menopausal women (<3 years in menopause, <55 years old) and 24 healthy age-matched premenopausal women (controls) without a history of known CVD or cardiovascular medications. The selection of patients took place at the Menopause Outpatient Clinics, Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital of Ioannina. At baseline, all women provided information regarding their cardiovascular and gynaecological history while a basic metabolic and hormonal laboratory analysis was performed. Subsequently all women underwent the vascular studies while blood and serum specimens were preserved for analysis of inflammatory markers and genetic polymorphisms. Menopausal women who presented clinically important vasomotor complaints (at least moderate hot flushes and sweats) participated (n=89) in the intervention study that included the use of HRT (transdermal 17 β -estradiol 50 mcg daily plus progesterone 200 mg pos cyclically for the last 12 days of a 28 day cycle) for 3 months. Of 89 menopausal women with clinically important vasomotor symptoms, only 40 consented to receive hormone therapy for alleviation of their symptoms while 44 agreed to attend a follow up visit at 3 months without taking any further medication; 5 women did not agree to follow-up. All women who attended the follow-up (n=84) at 3 months underwent a new vascular study and determination of metabolic, hormonal and vascular inflam-

mation parameters as described previously at baseline. Vascular studies included measurement of common carotid intima-media thickness (cIMT) and brachial reactivity test using ultrasonography. CIMT is a marker of structural subclinical atherosclerosis with established value in cardiovascular prognosis. Endothelial function, as assessed by flow-mediated dilation (endothelium-dependent vasodilation-EDV) in the brachial artery following reactive hyperemia of the arm, has been also related to cardiovascular prognosis in healthy subjects and patients with known CVD. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), P-Selectin, sCD40L and high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were used as vascular inflammation indices. Finally, genotype analysis of polymorphisms rs2234693 (also known as *PvuII* 454-397T>C) and rs9340799 (also known as *XbaI* 454-351A>G) of estrogen receptor α and rs4986938 (also known as *AluI* G1730A) of estrogen receptor β were performed using the combined method of polymerase chain reaction with the application of endonucleases for the determination of restriction fragment length polymorphisms (RFLPs).

Results. *Baseline study* – Early menopausal women had higher diastolic blood pressure (DBP) ($p=0.018$) and follicular stimulating hormone (FSH) ($p<0.001$) and lower estradiol ($p<0.001$) compared to premenopausal women. Furthermore, menopausal women presented lower EDV ($p<0.001$) and increased levels of P-Selectin ($p=0.006$) and sCD40L ($p=0.018$). No significant differences were observed between menopausal women and controls in cIMT, ICAM-1 and hs-CRP levels. ER polymorphisms did not show any correlation with vascular function and inflammation indices at baseline. *ER α XbaI A>G* polymorphism was associated with triglycerides levels (the presence of G allele was related to increased triglycerides, $p=0.023$) and *ER β AluI 1730 A>G* polymorphism was associated with systolic blood pressure (SBP) levels (the presence of G allele was related to increased systolic blood pressure, $p=0.029$). In menopausal women 1) severity of vasomotor symptoms and high density lipoprotein cholesterol were independent predictors of EDV, 2) age and SBP were independent predictors for cIMT and 3) severity of vasomotor symptoms, body mass index, triglycerides and SBP were the most important predictors of vascular inflammation indices. Menopausal women with at least moderately severe hot flushes/sweats had lower EDV compared to menopausal women with no/mild symptoms or premenopausal women; no difference in EDV was observed between menopausal women with no/mild symptoms and controls. Menopausal women with vasomotor symptoms showed higher levels of P-Selectin and sCD40L compared to menopausal women with no symptoms or con-

trols; menopausal women with no symptoms and controls did not differ in P-Selectin and sCD40L levels.

Intervention study – The two groups of menopausal women (those who took and those who did not take hormone therapy) did not differ in any studied parameter at baseline. Menopausal women that didn't receive HRT did not show any significant change in studied metabolic, hormonal and vascular parameters or vasomotor symptoms' severity at 3 months. HRT reduced vasomotor symptoms' severity in early menopausal women but also decreased SBP and DBP, total and low density lipoprotein (LDL-c) cholesterol, FSH and increased estradiol levels ($p < 0.05$ for all). Furthermore, HRT resulted in a significant increase in EDV and a decrease in ICAM-1, P-Selectin and sCD40L ($p < 0.001$ for all). HRT did not change significantly hs-CRP levels in menopausal women. Menopausal women who received HRT for 3 months did not show any difference in EDV, P-Selectin and sCD40L when compared to premenopausal controls. ER α polymorphisms were associated with treatment-induced changes in blood pressure (non wild type alleles PvuII C and XbaI G were related to greater reductions in SBP and DBP with HRT) while ER β polymorphism was associated with treatment-induced changes in LDL-c (the presence of wild type allele AluI A was related to greater reductions in LDL-c with HRT). The presence of ER α XbaI A and ER β AluI A alleles were associated with greater treatment-induced improvements in sCD40L and EDV respectively in menopausal women. Independent predictors of treatment-induced 1) improvement in EDV were the presence of ER β AluI A allele and treatment-induced reductions in SBP and LDL-c, 2) decrease in ICAM-1 was treatment-induced reductions in DBP and 3) decrease in sCD40L was the presence of ER α XbaI A allele.

Conclusions. Healthy early menopausal women showed a deterioration of endothelial function and an increase in vascular inflammation indices without a concomitant increase in cIMT (structural disease) compared to age-matched premenopausal women. Endothelial dysfunction and increased vascular inflammation may be associated with adverse cardiovascular prognosis in these women in the future. In menopausal women, impaired EDV and increased levels of inflammatory markers were related to the levels of established cardiovascular risk factors but also to severity of menopausal vasomotor symptoms. The presence and increased severity of vasomotor complaints could be an important marker of increased cardiovascular risk in early menopausal women. Short-term administration of HRT was efficient in improving both endothelial function and vascular inflammation suggesting

a benefit in long-term cardiovascular prognosis. Early menopausal women with clinically important vasomotor symptoms could thus be the group of women that may benefit the most from HRT in cardiovascular prognosis. The presence of specific genetic polymorphisms of ER α and β may be related to the efficacy of HRT in improving vascular function and inflammation indices.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Collins P, Rosano G, Casey C, *et al.* Management of cardiovascular risk in the perimenopausal woman: a consensus statement of European cardiologists and gynaecologists. *Eur Heart J.* 2007;28(16):2028-40.
2. Stramba-Badiale M, Fox KM, Priori SG, *et al.* Cardiovascular diseases in women: a statement from the policy conference of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2006;27(8):994-1005.
3. Mosca L, Ferris A, Fabunmi R, *et al.* Tracking women's awareness of heart disease: an American Heart Association national study. *Circulation.* 2004;109(5):573-9.
4. Bello N, Mosca L. Epidemiology of coronary heart disease in women. *Prog Cardiovasc Dis.* 2004;46(4):287-95.
5. Ouyang P, Michos ED, Karas RH. Hormone replacement therapy and the cardiovascular system lessons learned and unanswered questions. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(9):1741-53.
6. Sytkowski PA, D'Agostino RB, Belanger A, *et al.* Sex and time trends in cardiovascular disease incidence and mortality: the Framingham Heart Study, 1950-1989. *Am J Epidemiol.* 1996;143(4):338-50.
7. Shaw LJ, Bairey Merz CN, Pepine CJ, *et al.* Insights from the NHLBI-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study: Part I: gender differences in traditional and novel risk factors, symptom evaluation, and gender-optimized diagnostic strategies. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(3 Suppl):S4-S20.
8. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, *et al.* Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2010;121(7):e46-e215.
9. Anand SS, Islam S, Rosengren A, *et al.* Risk factors for myocardial infarction in women and men: insights from the INTERHEART study. *Eur Heart J.* 2008;29(7):932-40.
10. Vaccarino V, Badimon L, Corti R, *et al.* Ischaemic heart disease in women: are there sex differences in pathophysiology and risk factors? Position paper from the working group on coronary pathophysiology and microcirculation of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res.* 2011;90(1):9-17.
11. Grundtvig M, Hagen TP, German M, *et al.* Sex-based differences in premature first myocardial infarction caused by smoking: twice as many years lost by women as by men. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2009;16(2):174-9.
12. Willett WC, Green A, Stampfer MJ, *et al.* Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes. *N Engl J Med.* 1987;317(21):1303-9.

13. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet.* 2004;364(9438):937-52.
14. Castelli WP. Cardiovascular disease: pathogenesis, epidemiology, and risk among users of oral contraceptives who smoke. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(6 Pt 2):S349-56.
15. He J, Vupputuri S, Allen K, *et al.* Passive smoking and the risk of coronary heart disease--a meta-analysis of epidemiologic studies. *N Engl J Med.* 1999;340(12):920-6.
16. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, *et al.* Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005;365(9455):217-23.
17. Ambrosioni E, Leonetti G, Pessina AC, *et al.* Patterns of hypertension management in Italy: results of a pharmacoepidemiological survey on antihypertensive therapy. Scientific Committee of the Italian Pharmacoepidemiological Survey on Antihypertensive Therapy. *J Hypertens.* 2000;18(11):1691-9.
18. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, *et al.* Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet.* 2002;360(9349):1903-13.
19. Perry HM, Jr., Davis BR, Price TR, *et al.* Effect of treating isolated systolic hypertension on the risk of developing various types and subtypes of stroke: the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). *JAMA.* 2000;284(4):465-71.
20. ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA.* 2002;288(23):2981-97.
21. Jonsdottir LS, Sigfusson N, Gudnason V, *et al.* Do lipids, blood pressure, diabetes, and smoking confer equal risk of myocardial infarction in women as in men? The Reykjavik Study. *J Cardiovasc Risk.* 2002;9(2):67-76.
22. Kannel WB. Metabolic risk factors for coronary heart disease in women: perspective from the Framingham Study. *Am Heart J.* 1987;114(2):413-9.
23. Bass KM, Newschaffer CJ, Klag MJ, *et al.* Plasma lipoprotein levels as predictors of cardiovascular death in women. *Arch Intern Med.* 1993;153(19):2209-16.
24. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, *et al.* European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J.* 2003;24(17):1601-10.

25. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, *et al.* Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004;110(2):227-39.
26. Barter P, Kastelein J, Nunn A, *et al.* High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis*. 2003;168(2):195-211.
27. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady SA, *et al.* Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*. 2001;104(10):1108-13.
28. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, *et al.* High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*. 1989;79(1):8-15.
29. Shlipak MG, Simon JA, Vittinghoff E, *et al.* Estrogen and progestin, lipoprotein(a), and the risk of recurrent coronary heart disease events after menopause. *JAMA*. 2000;283(14):1845-52.
30. Clinical reality of coronary prevention guidelines: a comparison of EUROASPIRE I and II in nine countries. EUROASPIRE I and II Group. European Action on Secondary Prevention by Intervention to Reduce Events. *Lancet*. 2001;357(9261):995-1001.
31. Kanaya AM, Grady D, Barrett-Connor E. Explaining the sex difference in coronary heart disease mortality among patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2002;162(15):1737-45.
32. Huxley R, Barzi F, Woodward M. Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies. *BMJ*. 2006;332(7533):73-8.
33. Pyorala K, Lehto S, De Bacquer D, *et al.* Risk factor management in diabetic and non-diabetic patients with coronary heart disease. Findings from the EUROASPIRE I AND II surveys. *Diabetologia*. 2004;47(7):1257-65.
34. Hu FB, Willett WC, Li T, *et al.* Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med*. 2004;351(26):2694-703.
35. Castelo-Branco C, Blumel JE, Roncagliolo ME, *et al.* Age, menopause and hormone replacement therapy influences on cardiovascular risk factors in a cohort of middle-aged Chilean women. *Maturitas*. 2003;45(3):205-12.
36. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-421.

37. Ridker PM, Buring JE, Shih J, *et al.* Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation*. 1998;98(8):731-3.
38. Kurtz EG, Ridker PM, Rose LM, *et al.* Oral postmenopausal hormone therapy, C-reactive protein, and cardiovascular outcomes. *Menopause*. 2011;18(1):23-9.
39. Arant CB, Wessel TR, Olson MB, *et al.* Hemoglobin level is an independent predictor for adverse cardiovascular outcomes in women undergoing evaluation for chest pain: results from the National Heart, Lung, and Blood Institute Women's Ischemia Syndrome Evaluation Study. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(11):2009-14.
40. Bairey Merz CN, Shaw LJ, Reis SE, *et al.* Insights from the NHLBI-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study: Part II: gender differences in presentation, diagnosis, and outcome with regard to gender-based pathophysiology of atherosclerosis and macrovascular and microvascular coronary disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(3 Suppl):S21-9.
41. Shaw JA, Kingwell BA, Walton AS, *et al.* Determinants of coronary artery compliance in subjects with and without angiographic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(10):1637-43.
42. Shaw LJ, Lewis JF, Hlatky MA, *et al.* Women's Ischemic Syndrome Evaluation: current status and future research directions: report of the National Heart, Lung and Blood Institute workshop: October 2-4, 2002: Section 5: gender-related risk factors for ischemic heart disease. *Circulation*. 2004;109(6):e56-8.
43. Douglas PS, Ginsburg GS. The evaluation of chest pain in women. *N Engl J Med*. 1996;334(20):1311-5.
44. Kannel WB, Dannenberg AL, Abbott RD. Unrecognized myocardial infarction and hypertension: the Framingham Study. *Am Heart J*. 1985;109(3 Pt 1):581-5.
45. Stramba-Badiale M, Bonazzi O, Casadei G, *et al.* Prevalence of episodes of ST-segment depression among mild-to-moderate hypertensive patients in northern Italy: the Cardioscreening Study. *J Hypertens*. 1998;16(5):681-8.
46. Daly CA, Clemens F, Sendon JL, *et al.* The clinical characteristics and investigations planned in patients with stable angina presenting to cardiologists in Europe: from the Euro Heart Survey of Stable Angina. *Eur Heart J*. 2005;26(10):996-1010.
47. Hochman JS, Tamis JE, Thompson TD, *et al.* Sex, clinical presentation, and outcome in patients with acute coronary syndromes. Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries in Acute Coronary Syndromes IIb Investigators. *N Engl J Med*. 1999;341(4):226-32.

48. Rosengren A, Wallentin L, A KG, *et al.* Sex, age, and clinical presentation of acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2004;25(8):663-70.
49. Tofler GH, Stone PH, Muller JE, *et al.* Mortality for women after acute myocardial infarction: MILIS Study Group. *Am J Cardiol.* 1989;64(3):256.
50. Fang MC, Singer DE, Chang Y, *et al.* Gender differences in the risk of ischemic stroke and peripheral embolism in atrial fibrillation: the AnTicoagulation and Risk factors In Atrial fibrillation (ATRIA) study. *Circulation.* 2005;112(12):1687-91.
51. Bushnell CD, Hurn P, Colton C, *et al.* Advancing the study of stroke in women: summary and recommendations for future research from an NINDS-Sponsored Multidisciplinary Working Group. *Stroke.* 2006;37(9):2387-99.
52. Daly C, Clemens F, Lopez Sendon JL, *et al.* Gender differences in the management and clinical outcome of stable angina. *Circulation.* 2006;113(4):490-8.
53. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26.
54. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell.* 2001;104(4):503-16.
55. Navab M, Berliner JA, Watson AD, *et al.* The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16(7):831-42.
56. Yamada Y, Doi T, Hamakubo T, *et al.* Scavenger receptor family proteins: roles for atherosclerosis, host defence and disorders of the central nervous system. *Cell Mol Life Sci.* 1998;54(7):628-40.
57. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, *et al.* Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med.* 1989;320(14):915-24.
58. Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science.* 1991;251(4995):788-91.
59. Dong ZM, Chapman SM, Brown AA, *et al.* The combined role of P- and E-selectins in atherosclerosis. *J Clin Invest.* 1998;102(1):145-52.
60. Collins RG, Velji R, Guevara NV, *et al.* P-Selectin or intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 deficiency substantially protects against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Exp Med.* 2000;191(1):189-94.
61. Hansson GK. Cell-mediated immunity in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 1997;8(5):301-11.
62. Lee RT, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(10):1859-67.
63. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, *et al.* Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;94(6):2493-503.

64. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(23 Suppl 1):III27-32.
65. Vita JA. Endothelial function and clinical outcome. *Heart*. 2005;91(10):1278-9.
66. Henderson A. Endothelial dysfunction: a reversible clinical measure of atherogenic susceptibility and cardiovascular inefficiency. *Int J Cardiol*. 1997;62 Suppl 1:S43-8.
67. Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, *et al*. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(8):4736-41.
68. Shimokawa H, Vanhoutte PM. Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactive substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circ Res*. 1989;64(5):900-14.
69. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, *et al*. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2011.
70. Deanfield J, Donald A, Ferri C, *et al*. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005;23(1):7-17.
71. Joyner MJ, Dietz NM, Shepherd JT. From Belfast to Mayo and beyond: the use and future of plethysmography to study blood flow in human limbs. *J Appl Physiol*. 2001;91(6):2431-41.
72. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Jr., *et al*. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*. 1990;323(1):22-7.
73. Chowienczyk PJ, Watts GF, Cockcroft JR, *et al*. Impaired endothelium-dependent vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia. *Lancet*. 1992;340(8833):1430-2.
74. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, *et al*. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104(22):2673-8.
75. Gush RJ, King TA. Discrimination of capillary and arterio-venular blood flow in skin by laser Doppler flowmetry. *Med Biol Eng Comput*. 1991;29(4):387-92.
76. Khan F, Patterson D, Belch JJ, *et al*. Relationship between peripheral and coronary function using laser Doppler imaging and transthoracic echocardiography. *Clin Sci (Lond)*. 2008;115(9):295-300.
77. Fredriksson I, Larsson M, Stromberg T. Measurement depth and volume in laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res*. 2009;78(1):4-13.

78. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, *et al.* Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;48(9):1856-62.
79. Abularrage CJ, Sidawy AN, Aidinian G, *et al.* Evaluation of the microcirculation in vascular disease. *J Vasc Surg*. 2005;42(3):574-81.
80. Chowienczyk PJ, Kelly RP, MacCallum H, *et al.* Photoplethysmographic assessment of pulse wave reflection: blunted response to endothelium-dependent beta2-adrenergic vasodilation in type II diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34(7):2007-14.
81. Wilkinson IB, Hall IR, MacCallum H, *et al.* Pulse-wave analysis: clinical evaluation of a noninvasive, widely applicable method for assessing endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(1):147-52.
82. Hayward CS, Kraidly M, Webb CM, *et al.* Assessment of endothelial function using peripheral waveform analysis: a clinical application. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40(3):521-8.
83. Kals J, Kampus P, Kals M, *et al.* Effects of stimulation of nitric oxide synthesis on large artery stiffness in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis*. 2006;185(2):368-74.
84. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, *et al.* Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340(8828):1111-5.
85. Doshi SN, Naka KK, Payne N, *et al.* Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci (Lond)*. 2001;101(6):629-35.
86. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, *et al.* Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):257-65.
87. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, *et al.* Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26(5):1235-41.
88. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000;101(16):1899-906.
89. Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, *et al.* Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002;106(6):653-8.
90. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, *et al.* Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2000;101(9):948-54.
91. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, *et al.* Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24(6):1468-74.

92. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, *et al.* Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation*. 2003;108(17):2093-8.
93. Chan SY, Mancini GB, Kuramoto L, *et al.* The prognostic importance of endothelial dysfunction and carotid atheroma burden in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(6):1037-43.
94. Gokce N, Keaney JF, Jr., Hunter LM, *et al.* Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(10):1769-75.
95. Fischer D, Rossa S, Landmesser U, *et al.* Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. *Eur Heart J*. 2005;26(1):65-9.
96. Yeboah J, Crouse JR, Hsu FC, *et al.* Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007;115(18):2390-7.
97. Rossi R, Nuzzo A, Origliani G, *et al.* Prognostic role of flow-mediated dilation and cardiac risk factors in post-menopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(10):997-1002.
98. Shechter M, Issachar A, Marai I, *et al.* Long-term association of brachial artery flow-mediated vasodilation and cardiovascular events in middle-aged subjects with no apparent heart disease. *Int J Cardiol*. 2009;134(1):52-8.
99. Suessenbacher A, Frick M, Alber HF, *et al.* Association of improvement of brachial artery flow-mediated vasodilation with cardiovascular events. *Vasc Med*. 2006;11(4):239-44.
100. Kitta Y, Obata JE, Nakamura T, *et al.* Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(4):323-30.
101. Frick M, Suessenbacher A, Alber HF, *et al.* Prognostic value of brachial artery endothelial function and wall thickness. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(6):1006-10.
102. Shimbo D, Grahame-Clarke C, Miyake Y, *et al.* The association between endothelial dysfunction and cardiovascular outcomes in a population-based multi-ethnic cohort. *Atherosclerosis*. 2007;192(1):197-203.
103. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, *et al.* Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009;120(6):502-9.
104. Green DJ, Jones H, Thijssen D, *et al.* Flow-mediated dilation and cardiovascular event prediction: does nitric oxide matter? *Hypertension*. 2011;57(3):363-9.

105. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, *et al.* Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(3):505-10.
106. Ferri C, Desideri G, Baldoncini R, *et al.* Early activation of vascular endothelium in nonobese, nondiabetic essential hypertensive patients with multiple metabolic abnormalities. *Diabetes.* 1998;47(4):660-7.
107. Desideri G, Marinucci MC, Tomassoni G, *et al.* Vitamin E supplementation reduces plasma vascular cell adhesion molecule-1 and von Willebrand factor levels and increases nitric oxide concentrations in hypercholesterolemic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(6):2940-5.
108. Deodhar SD. C-reactive protein: the best laboratory indicator available for monitoring disease activity. *Cleve Clin J Med.* 1989;56(2):126-30.
109. Jialal I, Devaraj S, Singh U. C-reactive protein and the vascular endothelium: implications for plaque instability. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(7):1379-81.
110. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, *et al.* Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 2001;158(3):1039-51.
111. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension.* 2004;44(1):6-11.
112. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, *et al.* Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002;106(12):1439-41.
113. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2003;108(14):1676-8.
114. Han KH, Hong KH, Park JH, *et al.* C-reactive protein promotes monocyte chemoattractant protein-1--mediated chemotaxis through upregulating CC chemokine receptor 2 expression in human monocytes. *Circulation.* 2004;109(21):2566-71.
115. Wang CH, Li SH, Weisel RD, *et al.* C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation.* 2003;107(13):1783-90.
116. Williams TN, Zhang CX, Game BA, *et al.* C-reactive protein stimulates MMP-1 expression in U937 histiocytes through Fc[gamma]RII and extracellular signal-regulated kinase pathway:: an implication of CRP involvement in plaque destabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(1):61-6.
117. Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation.* 2003;107(3):398-404.

118. Ishikawa T, Hatakeyama K, Imamura T, *et al.* Involvement of C-reactive protein obtained by directional coronary atherectomy in plaque instability and developing restenosis in patients with stable or unstable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 2003;91(3):287-92.
119. Inoue T, Kato T, Uchida T, *et al.* Local release of C-reactive protein from vulnerable plaque or coronary arterial wall injured by stenting. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(2):239-45.
120. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, *et al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003;107(3):499-511.
121. Mendall MA, Patel P, Ballam L, *et al.* C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ.* 1996;312(7038):1061-5.
122. Cook DG, Mendall MA, Whincup PH, *et al.* C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis.* 2000;149(1):139-50.
123. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation.* 2003;107(3):363-9.
124. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, *et al.* C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000;342(12):836-43.
125. Ridker PM, Rifai N, Rose L, *et al.* Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002;347(20):1557-65.
126. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, *et al.* Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA.* 2002;288(8):980-7.
127. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, *et al.* C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *Thrombolysis in Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol.* 1998;31(7):1460-5.
128. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, *et al.* Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. *Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. N Engl J Med.* 2000;343(16):1139-47.
129. James SK, Armstrong P, Barnathan E, *et al.* Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndrome: a GUSTO-IV substudy. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(6):916-24.

130. Anand SX, Viles-Gonzalez JF, Badimon JJ, *et al.* Membrane-associated CD40L and sCD40L in atherothrombotic disease. *Thromb Haemost.* 2003;90(3):377-84.
131. Schonbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58(1):4-43.
132. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, *et al.* New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation.* 2003;108(16):1917-23.
133. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, *et al.* Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2003;348(12):1104-11.
134. Chen Y, Chen J, Xiong Y, *et al.* Internalization of CD40 regulates its signal transduction in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;345(1):106-17.
135. Chen C, Chai H, Wang X, *et al.* Soluble CD40 ligand induces endothelial dysfunction in human and porcine coronary artery endothelial cells. *Blood.* 2008;112(8):3205-16.
136. Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res.* 2001;89(12):1092-103.
137. Aukrust P, Damas JK, Solum NO. Soluble CD40 ligand and platelets: self-perpetuating pathogenic loop in thrombosis and inflammation? *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(12):2326-8.
138. Nannizzi-Alaimo L, Alves VL, Phillips DR. Inhibitory effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists and aspirin on the release of soluble CD40 ligand during platelet stimulation. *Circulation.* 2003;107(8):1123-8.
139. Abu el-Makrem MA, Mahmoud YZ, Sayed D, *et al.* The role of platelets CD40 ligand (CD154) in acute coronary syndromes. *Thromb Res.* 2009;124(6):683-8.
140. Antoniadou C, Bakogiannis C, Tousoulis D, *et al.* The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(8):669-77.
141. Tousoulis D, Antoniadou C, Nikolopoulou A, *et al.* Interaction between cytokines and sCD40L in patients with stable and unstable coronary syndromes. *Eur J Clin Invest.* 2007;37(8):623-8.
142. Schonbeck U, Varo N, Libby P, *et al.* Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation.* 2001;104(19):2266-8.
143. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, *et al.* Effect of atorvastatin on risk of recurrent cardiovascular events after an acute coronary syndrome associated with high soluble CD40 ligand in the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) Study. *Circulation.* 2004;110(4):386-91.
144. Tanne D, Haim M, Goldbourt U, *et al.* CD40 ligand and risk of ischemic stroke or coronary events in patients with chronic coronary heart disease. *Int J Cardiol.* 2006;107(3):322-6.

145. Olenchock BA, Wiviott SD, Murphy SA, *et al.* Lack of association between soluble CD40L and risk in a large cohort of patients with acute coronary syndrome in OPUS TIMI-16. *J Thromb Thrombolysis*. 2008;26(2):79-84.
146. Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, *et al.* Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J*. 2008;29(9):1096-102.
147. Ivandic BT, Spanuth E, Haase D, *et al.* Increased plasma concentrations of soluble CD40 ligand in acute coronary syndrome depend on in vitro platelet activation. *Clin Chem*. 2007;53(7):1231-4.
148. Varo N, Nuzzo R, Natal C, *et al.* Influence of pre-analytical and analytical factors on soluble CD40L measurements. *Clin Sci (Lond)*. 2006;111(5):341-7.
149. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez MJ, *et al.* Diurnal variation of soluble CD40 ligand in patients with acute coronary syndrome. Soluble CD40 ligand and diurnal variation. *Thromb Res*. 2009;123(4):617-21.
150. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2003;170(2):191-203.
151. Taylor A, Granger DN. Role of adhesion molecules in vascular regulation and damage. *Curr Hypertens Rep*. 2000;2(1):78-83.
152. Krieglstein CF, Granger DN. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens*. 2001;14(6 Pt 2):44S-54S.
153. Mulvihill NT, Foley JB, Crean P, *et al.* Prediction of cardiovascular risk using soluble cell adhesion molecules. *Eur Heart J*. 2002;23(20):1569-74.
154. Komatsu S, Flores S, Gerritsen ME, *et al.* Differential up-regulation of circulating soluble and endothelial cell intercellular adhesion molecule-1 in mice. *Am J Pathol*. 1997;151(1):205-14.
155. Burger PC, Wagner DD. Platelet P-selectin facilitates atherosclerotic lesion development. *Blood*. 2003;101(7):2661-6.
156. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135-43.
157. Blann AD, Steele C, McCollum CN. The influence of smoking on soluble adhesion molecules and endothelial cell markers. *Thromb Res*. 1997;85(5):433-8.
158. DeSouza CA, Dengel DR, Macko RF, *et al.* Elevated levels of circulating cell adhesion molecules in uncomplicated essential hypertension. *Am J Hypertens*. 1997;10(12 Pt 1):1335-41.
159. Verhaar MC, Beutler JJ, Gaillard CA, *et al.* Progressive vascular damage in hypertension is associated with increased levels of circulating P-selectin. *J Hypertens*. 1998;16(1):45-50.

160. Preston RA, Ledford M, Materson BJ, *et al.* Effects of severe, uncontrolled hypertension on endothelial activation: soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1 and von Willebrand factor. *J Hypertens.* 2002;20(5):871-7.
161. Hackman A, Abe Y, Insull W, Jr., *et al.* Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation.* 1996;93(7):1334-8.
162. Abe Y, El-Masri B, Kimball KT, *et al.* Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(5):723-31.
163. Davi G, Romano M, Mezzetti A, *et al.* Increased levels of soluble P-selectin in hypercholesterolemic patients. *Circulation.* 1998;97(10):953-7.
164. Steiner M, Reinhardt KM, Krammer B, *et al.* Increased levels of soluble adhesion molecules in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus are independent of glycaemic control. *Thromb Haemost.* 1994;72(6):979-84.
165. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, *et al.* Elevated levels of soluble E-selectin in patients with IDDM and NIDDM: relation to metabolic control. *Diabetologia.* 1995;38(9):1122-4.
166. Jilma B, Fasching P, Ruthner C, *et al.* Elevated circulating P-selectin in insulin dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost.* 1996;76(3):328-32.
167. Chen NG, Holmes M, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(10):3485-9.
168. Hak AE, Pols HA, Stehouwer CD, *et al.* Markers of inflammation and cellular adhesion molecules in relation to insulin resistance in nondiabetic elderly: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(9):4398-405.
169. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, *et al.* Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1997;96(12):4219-25.
170. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, *et al.* Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet.* 1998;351(9096):88-92.
171. de Lemos JA, Hennekens CH, Ridker PM. Plasma concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 and subsequent cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(2):423-6.
172. Witte DR, Broekmans WM, Kardinaal AF, *et al.* Soluble intercellular adhesion molecule 1 and flow-mediated dilatation are related to the estimated risk of coronary heart disease independently from each other. *Atherosclerosis.* 2003;170(1):147-53.

173. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2001;103(4):491-5.
174. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, *et al*. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104(12):1336-42.
175. Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, *et al*. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetes*. 2000;49(3):485-91.
176. Malik I, Danesh J, Whincup P, *et al*. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet*. 2001;358(9286):971-6.
177. Haim M, Tanne D, Boyko V, *et al*. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease. Data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(7):1133-8.
178. Blann AD, Faragher EB, McCollum CN. Increased soluble P-selectin following myocardial infarction: a new marker for the progression of atherosclerosis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1997;8(7):383-90.
179. Mulvihill NT, Foley JB, Murphy RT, *et al*. Risk stratification in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction using soluble cell adhesion molecules. *Heart*. 2001;85(6):623-7.
180. De Caterina R, Basta G, Lazzarini G, *et al*. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(11):2646-54.
181. Peter K, Nawroth P, Conradt C, *et al*. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(3):505-12.
182. Blann AD, Seigneur M, Steiner M, *et al*. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 in peripheral artery disease and hypercholesterolaemia: relationship to the location of atherosclerotic disease, smoking, and in the prediction of adverse events. *Thromb Haemost*. 1998;79(6):1080-5.
183. Pradhan AD, Rifai N, Ridker PM. Soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble vascular adhesion molecule-1, and the development of symptomatic peripheral arterial disease in men. *Circulation*. 2002;106(7):820-5.
184. Ikeda H, Nakayama H, Oda T, *et al*. Soluble form of P-selectin in patients with acute myocardial infarction. *Coron Artery Dis*. 1994;5(6):515-8.
185. Ikeda H, Takajo Y, Ichiki K, *et al*. Increased soluble form of P-selectin in patients with unstable angina. *Circulation*. 1995;92(7):1693-6.

186. Shyu KG, Chang H, Lin CC, *et al.* Circulating intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients with acute coronary syndrome. *Chest.* 1996;109(6):1627-30.
187. Miwa K, Igawa A, Inoue H. Soluble E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 levels in systemic and coronary circulation in patients with variant angina. *Cardiovasc Res.* 1997;36(1):37-44.
188. Ghaisas NK, Shahi CN, Foley B, *et al.* Elevated levels of circulating soluble adhesion molecules in peripheral blood of patients with unstable angina. *Am J Cardiol.* 1997;80(5):617-9.
189. Mulvihill NT, Foley JB, Murphy R, *et al.* Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(4):1210-6.
190. Hillis GS, Terregino C, Taggart P, *et al.* Elevated soluble P-selectin levels are associated with an increased risk of early adverse events in patients with presumed myocardial ischemia. *Am Heart J.* 2002;143(2):235-41.
191. Hollander JE, Muttreja MR, Dalesandro MR, *et al.* Risk stratification of emergency department patients with acute coronary syndromes using P-selectin. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34(1):95-105.
192. Laurent S, Boutouyrie P, Lacolley P. Structural and genetic bases of arterial stiffness. *Hypertension.* 2005;45(6):1050-5.
193. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, *et al.* Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006;27(21):2588-605.
194. Hamilton PK, Lockhart CJ, Quinn CE, *et al.* Arterial stiffness: clinical relevance, measurement and treatment. *Clin Sci (Lond).* 2007;113(4):157-70.
195. Safar ME, London GM. Therapeutic studies and arterial stiffness in hypertension: recommendations of the European Society of Hypertension. The Clinical Committee of Arterial Structure and Function. Working Group on Vascular Structure and Function of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2000;18(11):1527-35.
196. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, *et al.* Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(9):1753-60.
197. Simon AC, Levenson J, Bouthier J, *et al.* Evidence of early degenerative changes in large arteries in human essential hypertension. *Hypertension.* 1985;7(5):675-80.
198. Ferreira I, Henry RM, Twisk JW, *et al.* The metabolic syndrome, cardiopulmonary fitness, and subcutaneous trunk fat as independent determinants of arterial stiffness: the Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *Arch Intern Med.* 2005;165(8):875-82.
199. Kool MJ, Hoeks AP, Struijker Boudier HA, *et al.* Short- and long-term effects of smoking on arterial wall properties in habitual smokers. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22(7):1881-6.

200. Aggoun Y, Bonnet D, Sidi D, *et al.* Arterial mechanical changes in children with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(9):2070-5.
201. Schram MT, Henry RM, van Dijk RA, *et al.* Increased central artery stiffness in impaired glucose metabolism and type 2 diabetes: the Hoorn Study. *Hypertension.* 2004;43(2):176-81.
202. Yasmin, McEniery CM, Wallace S, *et al.* C-reactive protein is associated with arterial stiffness in apparently healthy individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(5):969-74.
203. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, *et al.* Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension.* 2002;39(1):10-5.
204. Giannattasio C, Failla M, Stella ML, *et al.* Angiotensin-converting enzyme inhibition and radial artery compliance in patients with congestive heart failure. *Hypertension.* 1995;26(3):491-6.
205. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, *et al.* Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation.* 1999;99(18):2434-9.
206. London GM, Blacher J, Pannier B, *et al.* Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. *Hypertension.* 2001;38(3):434-8.
207. Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald S, *et al.* Vascular stiffness in women with systemic lupus erythematosus. *Hypertension.* 2001;37(4):1075-82.
208. Klocke R, Cockcroft JR, Taylor GJ, *et al.* Arterial stiffness and central blood pressure, as determined by pulse wave analysis, in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(5):414-8.
209. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, *et al.* Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension.* 2001;37(5):1236-41.
210. Cruickshank K, Riste L, Anderson SG, *et al.* Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation.* 2002;106(16):2085-90.
211. Shoji T, Emoto M, Shinohara K, *et al.* Diabetes mellitus, aortic stiffness, and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(10):2117-24.
212. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, *et al.* Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2006;113(5):657-63.
213. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, *et al.* Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation.* 2006;113(5):664-70.

214. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, *et al.* Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010;121(4):505-11.
215. Williams B, Lacy PS, Thom SM, *et al.* Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation*. 2006;113(9):1213-25.
216. Weber T, Auer J, O'Rourke M F, *et al.* Increased arterial wave reflections predict severe cardiovascular events in patients undergoing percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J*. 2005;26(24):2657-63.
217. McGill HC, Jr., McMahan CA, Zieske AW, *et al.* Associations of coronary heart disease risk factors with the intermediate lesion of atherosclerosis in youth. The Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(8):1998-2004.
218. Virmani R, Burke AP, Farb A, *et al.* Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8 Suppl):C13-8.
219. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146(6):483-94.
220. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, *et al.* Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340(1):14-22.
221. Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, *et al.* Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation*. 2000;101(1):E16-22.
222. Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Increased common carotid intima-media thickness. Adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam Study. *Stroke*. 1997;28(12):2442-7.
223. Nagai Y, Metter EJ, Earley CJ, *et al.* Increased carotid artery intimal-medial thickness in asymptomatic older subjects with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation*. 1998;98(15):1504-9.
224. Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, *et al.* Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol*. 1991;139(5):1119-29.
225. Li Z, Froehlich J, Galis ZS, *et al.* Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in the thickened intima of aged rats. *Hypertension*. 1999;33(1):116-23.
226. Asai K, Kudej RK, Shen YT, *et al.* Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1493-9.

227. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, *et al.* Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(2):93-111; quiz 89-90.
228. Davis PH, Dawson JD, Riley WA, *et al.* Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. *Circulation.* 2001;104(23):2815-9.
229. Urbina EM, Srinivasan SR, Tang R, *et al.* Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol.* 2002;90(9):953-8.
230. Oren A, Vos LE, Uiterwaal CS, *et al.* Cardiovascular risk factors and increased carotid intima-media thickness in healthy young adults: the Atherosclerosis Risk in Young Adults (ARYA) Study. *Arch Intern Med.* 2003;163(15):1787-92.
231. Knoflach M, Kiechl S, Kind M, *et al.* Cardiovascular risk factors and atherosclerosis in young males: ARMY study (Atherosclerosis Risk-Factors in Male Youngsters). *Circulation.* 2003;108(9):1064-9.
232. Raitakari OT, Juonala M, Kahonen M, *et al.* Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA.* 2003;290(17):2277-83.
233. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, *et al.* Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol.* 2000;151(5):478-87.
234. Belcaro G, Nicolaides AN, Ramaswami G, *et al.* Carotid and femoral ultrasound morphology screening and cardiovascular events in low risk subjects: a 10-year follow-up study (the CAFES-CAVE study(1)). *Atherosclerosis.* 2001;156(2):379-87.
235. van der Meer IM, Bots ML, Hofman A, *et al.* Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2004;109(9):1089-94.
236. Rosvall M, Janzon L, Berglund G, *et al.* Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med.* 2005;257(5):430-7.
237. Craven TE, Ryu JE, Espeland MA, *et al.* Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study. *Circulation.* 1990;82(4):1230-42.

238. Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA, *et al.* Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007;116(1):32-8.
239. Lorenz MW, Schaefer C, Steinmetz H, *et al.* Is carotid intima media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Eur Heart J*. 2010;31(16):2041-8.
240. Roman MJ, Naqvi TZ, Gardin JM, *et al.* Clinical application of noninvasive vascular ultrasound in cardiovascular risk stratification: a report from the American Society of Echocardiography and the Society of Vascular Medicine and Biology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19(8):943-54.
241. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, *et al.* Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis*. 2007;23(1):75-80.
242. Soules MR, Sherman S, Parrott E, *et al.* Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). *Fertil Steril*. 2001;76(5):874-8.
243. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The menopausal transition. *Fertil Steril*. 2004;82 Suppl 1:S107-10.
244. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, *et al.* Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002;346(5):340-52.
245. Santoro N. The menopause transition: an update. *Hum Reprod Update*. 2002;8(2):155-60.
246. Santoro N, Brown JR, Adel T, *et al.* Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(4):1495-501.
247. Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, *et al.* Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(11):4025-30.
248. Rannevik G, Carlstrom K, Jeppsson S, *et al.* A prospective long-term study in women from pre-menopause to post-menopause: changing profiles of gonadotrophins, oestrogens and androgens. *Maturitas*. 1986;8(4):297-307.
249. Burger HG, Dudley EC, Cui J, *et al.* A prospective longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and sex hormone-binding globulin levels through the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(8):2832-8.
250. Longcope C, Franz C, Morello C, *et al.* Steroid and gonadotropin levels in women during the peri-menopausal years. *Maturitas*. 1986;8(3):189-96.
251. Taffe J, Garamszegi C, Dudley E, *et al.* Determinants of self rated menopause status. *Maturitas*. 1997;27(3):223-9.

252. Taffe JR, Dennerstein L. Menstrual patterns leading to the final menstrual period. *Menopause*. 2002;9(1):32-40.
253. Bromberger JT, Meyer PM, Kravitz HM, *et al.* Psychologic distress and natural menopause: a multiethnic community study. *Am J Public Health*. 2001;91(9):1435-42.
254. Lipton RB, Goadsby P, Silberstein SD. Classification and epidemiology of headache. *Clin Cornerstone*. 1999;1(6):1-10.
255. Dennerstein L, Dudley EC, Hopper JL, *et al.* A prospective population-based study of menopausal symptoms. *Obstet Gynecol*. 2000;96(3):351-8.
256. Stearns V, Ullmer L, Lopez JF, *et al.* Hot flashes. *Lancet*. 2002;360(9348):1851-61.
257. Kronenberg F. Hot flashes: phenomenology, quality of life, and search for treatment options. *Exp Gerontol*. 1994;29(3-4):319-36.
258. Erlik Y, Meldrum DR, Judd HL. Estrogen levels in postmenopausal women with hot flashes. *Obstet Gynecol*. 1982;59(4):403-7.
259. Chiechi LM, Ferreri R, Granieri M, *et al.* Climacteric syndrome and body-weight. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 1997;24(3):163-6.
260. Thurston RC, Sowers MR, Chang Y, *et al.* Adiposity and reporting of vasomotor symptoms among midlife women: the study of women's health across the nation. *Am J Epidemiol*. 2008;167(1):78-85.
261. Gold EB, Sternfeld B, Kelsey JL, *et al.* Relation of demographic and lifestyle factors to symptoms in a multi-racial/ethnic population of women 40-55 years of age. *Am J Epidemiol*. 2000;152(5):463-73.
262. Schwingl PJ, Hulka BS, Harlow SD. Risk factors for menopausal hot flashes. *Obstet Gynecol*. 1994;84(1):29-34.
263. Taylor M. Psychological consequences of surgical menopause. *J Reprod Med*. 2001;46(3 Suppl):317-24.
264. Sturdee DW. The menopausal hot flush--anything new? *Maturitas*. 2008;60(1):42-9.
265. Sturdee DW, Reece BL. Thermography of menopausal hot flashes. *Maturitas*. 1979;1(3):201-5.
266. Tataryn IV, Meldrum DR, Lu KH, *et al.* LH, FSH and skin temperature during the menopausal hot flash. *J Clin Endocrinol Metab*. 1979;49(1):152-4.
267. Kronenberg F, Cote LJ, Linkie DM, *et al.* Menopausal hot flashes: thermoregulatory, cardiovascular, and circulating catecholamine and LH changes. *Maturitas*. 1984;6(1):31-43.
268. Silverman RW, Bajorek JG, Lomax P, *et al.* Monitoring the pathophysiological correlates of post-menopausal hot flashes. *Maturitas*. 1981;3(1):39-46.
269. Berendsen HH. The role of serotonin in hot flashes. *Maturitas*. 2000;36(3):155-64.

270. Thurston RC, Christie IC, Matthews KA. Hot flashes and cardiac vagal control: a link to cardiovascular risk? *Menopause*. 2010;17(3):456-61.
271. Hautamaki H, Piirila P, Haapalahti P, *et al*. Cardiovascular autonomic responsiveness in postmenopausal women with and without hot flushes. *Maturitas*. 2011;68(4):368-73.
272. Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, *et al*. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *Ann Intern Med*. 1976;85(4):447-52.
273. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, *et al*. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med*. 1987;316(18):1105-10.
274. Wenger NK, Speroff L, Packard B. Cardiovascular health and disease in women. *N Engl J Med*. 1993;329(4):247-56.
275. Casiglia E, d'Este D, Ginocchio G, *et al*. Lack of influence of menopause on blood pressure and cardiovascular risk profile: a 16-year longitudinal study concerning a cohort of 568 women. *J Hypertens*. 1996;14(6):729-36.
276. Atsma F, Bartelink ML, Grobbee DE, *et al*. Postmenopausal status and early menopause as independent risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis. *Menopause*. 2006;13(2):265-79.
277. van der Schouw YT, van der Graaf Y, Steyerberg EW, *et al*. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet*. 1996;347(9003):714-8.
278. Jacobsen BK, Nilssen S, Heuch I, *et al*. Does age at natural menopause affect mortality from ischemic heart disease? *J Clin Epidemiol*. 1997;50(4):475-9.
279. Ingelsson E, Lundholm C, Johansson AL, *et al*. Hysterectomy and risk of cardiovascular disease: a population-based cohort study. *Eur Heart J*. 2010;32(6):745-50.
280. Bittner V. Menopause, age, and cardiovascular risk: a complex relationship. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(25):2374-5.
281. Cifkova R, Erdine S, Fagard R, *et al*. Practice guidelines for primary care physicians: 2003 ESH/ESC hypertension guidelines. *J Hypertens*. 2003;21(10):1779-86.
282. Staessen JA, Ginocchio G, Thijs L, *et al*. Conventional and ambulatory blood pressure and menopause in a prospective population study. *J Hum Hypertens*. 1997;11(8):507-14.
283. Matthews KA, Crawford SL, Chae CU, *et al*. Are changes in cardiovascular disease risk factors in midlife women due to chronological aging or to the menopausal transition? *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(25):2366-73.
284. Luoto R, Sharrett AR, Schreiner P, *et al*. Blood pressure and menopausal transition: the Atherosclerosis Risk in Communities study (1987-95). *J Hypertens*. 2000;18(1):27-33.
285. Graff-Iversen S, Thelle DS, Hammar N. Serum lipids, blood pressure and body weight around the age of the menopause. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2008;15(1):83-8.

286. Casiglia E, Tikhonoff V, Caffi S, *et al.* Menopause does not affect blood pressure and risk profile, and menopausal women do not become similar to men. *J Hypertens.* 2008;26(10):1983-92.
287. Mercurio G, Deidda M, Piras A, *et al.* Gender determinants of cardiovascular risk factors and diseases. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2010;11(3):207-20.
288. van Beresteyn EC, van t Hof MA, De Waard H. Contributions of ovarian failure and aging to blood pressure in normotensive perimenopausal women: a mixed longitudinal study. *Am J Epidemiol.* 1989;129(5):947-55.
289. Portaluppi F, Pansini F, Manfredini R, *et al.* Relative influence of menopausal status, age, and body mass index on blood pressure. *Hypertension.* 1997;29(4):976-9.
290. Luoto R, Kaprio J, Reunanen A, *et al.* Cardiovascular morbidity in relation to ovarian function after hysterectomy. *Obstet Gynecol.* 1995;85(4):515-22.
291. Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E, Wingard DL. Hysterectomy, oophorectomy, and heart disease risk factors in older women. *Am J Public Health.* 1997;87(4):676-80.
292. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, *et al.* Climacteric modifications in body weight and fat tissue distribution. *Climacteric.* 1999;2(1):37-44.
293. Crawford SL, Casey VA, Avis NE, *et al.* A longitudinal study of weight and the menopause transition: results from the Massachusetts Women's Health Study. *Menopause.* 2000;7(2):96-104.
294. Meilahn EN, Matthews KA, Egeland G, *et al.* Characteristics of women with hysterectomy. *Maturitas.* 1989;11(4):319-29.
295. Settnes A, Jorgensen T, Lange AP. Hysterectomy in Danish women: weight-related factors, psychologic factors, and life-style variables. *Obstet Gynecol.* 1996;88(1):99-105.
296. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, *et al.* Body weight, body fat distribution, and hormonal replacement therapy in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(2):414-7.
297. Matthews KA, Abrams B, Crawford S, *et al.* Body mass index in mid-life women: relative influence of menopause, hormone use, and ethnicity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(6):863-73.
298. Otsuki M, Kasayama S, Saito H, *et al.* Sex differences of age-dependent changes of insulin sensitivity in Japanese nondiabetic subjects. *Diabetes Care.* 2005;28(10):2590-1.
299. Simon D, Senan C, Garnier P, *et al.* Epidemiological features of glycated haemoglobin A1c-distribution in a healthy population. The Telecom Study. *Diabetologia.* 1989;32(12):864-9.
300. Kuh D, Langenberg C, Hardy R, *et al.* Cardiovascular risk at age 53 years in relation to the menopause transition and use of hormone replacement therapy: a prospective British birth cohort study. *BJOG.* 2005;112(4):476-85.

301. Lindheim SR, Buchanan TA, Duffy DM, *et al.* Comparison of estimates of insulin sensitivity in pre- and postmenopausal women using the insulin tolerance test and the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *J Soc Gynecol Investig.* 1994;1(2):150-4.
302. Peters HW, Westendorp IC, Hak AE, *et al.* Menopausal status and risk factors for cardiovascular disease. *J Intern Med.* 1999;246(6):521-8.
303. Ferrannini E. Physiological and metabolic consequences of obesity. *Metabolism.* 1995;44(9 Suppl 3):15-7.
304. de Aloysio D, Gambacciani M, Meschia M, *et al.* The effect of menopause on blood lipid and lipoprotein levels. The Icarus Study Group. *Atherosclerosis.* 1999;147(1):147-53.
305. Farish E, Fletcher CD, Hart DM, *et al.* Effects of bilateral oophorectomy on lipoprotein metabolism. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990;97(1):78-82.
306. Jensen J, Nilas L, Christiansen C. Influence of menopause on serum lipids and lipoproteins. *Maturitas.* 1990;12(4):321-31.
307. Stevenson JC, Crook D, Godsland IF. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. *Atherosclerosis.* 1993;98(1):83-90.
308. Woodard GA, Brooks MM, Barinas-Mitchell E, *et al.* Lipids, menopause, and early atherosclerosis in Study of Women's Health Across the Nation Heart women. *Menopause.* 2010.
309. Carr MC, Kim KH, Zambon A, *et al.* Changes in LDL density across the menopausal transition. *J Investig Med.* 2000;48(4):245-50.
310. Li Z, McNamara JR, Fruchart JC, *et al.* Effects of gender and menopausal status on plasma lipoprotein subspecies and particle sizes. *J Lipid Res.* 1996;37(9):1886-96.
311. Campos H, McNamara JR, Wilson PW, *et al.* Differences in low density lipoprotein subfractions and apolipoproteins in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67(1):30-5.
312. Jenner JL, Ordovas JM, Lamon-Fava S, *et al.* Effects of age, sex, and menopausal status on plasma lipoprotein(a) levels. The Framingham Offspring Study. *Circulation.* 1993;87(4):1135-41.
313. Kim CJ, Ryu WS, Kwak JW, *et al.* Changes in Lp(a) lipoprotein and lipid levels after cessation of female sex hormone production and estrogen replacement therapy. *Arch Intern Med.* 1996;156(5):500-4.
314. Lerner DJ, Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J.* 1986;111(2):383-90.
315. Lobo RA. Metabolic syndrome after menopause and the role of hormones. *Maturitas.* 2008;60(1):10-8.

316. Heidari R, Sadeghi M, Talaei M, *et al.* Metabolic syndrome in menopausal transition: Isfahan Healthy Heart Program, a population based study. *Diabetol Metab Syndr.* 2010;2:59.
317. Lin JW, Caffrey JL, Chang MH, *et al.* Sex, menopause, metabolic syndrome, and all-cause and cause-specific mortality--cohort analysis from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4258-67.
318. Oger E, Alhenc-Gelas M, Plu-Bureau G, *et al.* Association of circulating cellular adhesion molecules with menopausal status and hormone replacement therapy. Time-dependent change in transdermal, but not oral estrogen users. *Thromb Res.* 2001;101(2):35-43.
319. Sites CK, Toth MJ, Cushman M, *et al.* Menopause-related differences in inflammation markers and their relationship to body fat distribution and insulin-stimulated glucose disposal. *Fertil Steril.* 2002;77(1):128-35.
320. Lee CG, Carr MC, Murdoch SJ, *et al.* Adipokines, inflammation, and visceral adiposity across the menopausal transition: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(4):1104-10.
321. Scarabin PY, Plu-Bureau G, Bara L, *et al.* Haemostatic variables and menopausal status: influence of hormone replacement therapy. *Thromb Haemost.* 1993;70(4):584-7.
322. Lee AJ, Lowe GD, Smith WC, *et al.* Plasma fibrinogen in women: relationships with oral contraception, the menopause and hormone replacement therapy. *Br J Haematol.* 1993;83(4):616-21.
323. Balleisen L, Bailey J, Epping PH, *et al.* Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-using, and menopause. *Thromb Haemost.* 1985;54(2):475-9.
324. Gebara OC, Mittleman MA, Sutherland P, *et al.* Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic potential in the Framingham Offspring Study. *Circulation.* 1995;91(7):1952-8.
325. Meilahn EN, Kuller LH, Matthews KA, *et al.* Hemostatic factors according to menopausal status and use of hormone replacement therapy. *Ann Epidemiol.* 1992;2(4):445-55.
326. Tait RC, Walker ID, Islam SI, *et al.* Protein C activity in healthy volunteers--influence of age, sex, smoking and oral contraceptives. *Thromb Haemost.* 1993;70(2):281-5.
327. Sowers MR, Matthews KA, Jannausch M, *et al.* Hemostatic factors and estrogen during the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(11):5942-8.
328. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, *et al.* Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA.* 1999;281(8):727-35.
329. Tejada C, Strong JP, Montenegro MR, *et al.* Distribution of coronary and aortic atherosclerosis by geographic location, race, and sex. *Lab Invest.* 1968;18(5):509-26.

330. McGill HC, Stern MP. Sex and atherosclerosis. *Atheroscler Rev.* 1979;4:157-242.
331. Dollar AL, Kragel AH, Fericola DJ, *et al.* Composition of atherosclerotic plaques in coronary arteries in women less than 40 years of age with fatal coronary artery disease and implications for plaque reversibility. *Am J Cardiol.* 1991;67(15):1223-7.
332. Bush DE, Jones CE, Bass KM, *et al.* Estrogen replacement reverses endothelial dysfunction in postmenopausal women. *Am J Med.* 1998;104(6):552-8.
333. Sorensen KE, Dorup I, Hermann AP, *et al.* Combined hormone replacement therapy does not protect women against the age-related decline in endothelium-dependent vasomotor function. *Circulation.* 1998;97(13):1234-8.
334. Colacurci N, Manzella D, Fornaro F, *et al.* Endothelial function and menopause: effects of raloxifene administration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(5):2135-40.
335. Vitale C, Mercurio G, Cerquetani E, *et al.* Time since menopause influences the acute and chronic effect of estrogens on endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(2):348-52.
336. Pinto S, Viridis A, Ghiadoni L, *et al.* Endogenous estrogen and acetylcholine-induced vasodilation in normotensive women. *Hypertension.* 1997;29(1 Pt 2):268-73.
337. Viridis A, Ghiadoni L, Pinto S, *et al.* Mechanisms responsible for endothelial dysfunction associated with acute estrogen deprivation in normotensive women. *Circulation.* 2000;101(19):2258-63.
338. Ohmichi M, Kanda Y, Hisamoto K, *et al.* Rapid changes of flow-mediated dilatation after surgical menopause. *Maturitas.* 2003;44(2):125-31.
339. Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, *et al.* Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(8):3907-13.
340. Bairey Merz CN, Johnson BD, Sharaf BL, *et al.* Hypoestrogenemia of hypothalamic origin and coronary artery disease in premenopausal women: a report from the NHLBI-sponsored WISE study. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(3):413-9.
341. Rickenlund A, Eriksson MJ, Schenck-Gustafsson K, *et al.* Amenorrhea in female athletes is associated with endothelial dysfunction and unfavorable lipid profile. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(3):1354-9.
342. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, *et al.* Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation.* 1995;92(12):3431-5.
343. Williams MR, Westerman RA, Kingwell BA, *et al.* Variations in endothelial function and arterial compliance during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(11):5389-95.

344. Hamelin BA, Methot J, Arsenault M, *et al.* Influence of the menstrual cycle on the timing of acute coronary events in premenopausal women. *Am J Med.* 2003;114(7):599-602.
345. Jonason T, Henriksen E, Kangro T, *et al.* Menopause is associated with the stiffness of the common carotid artery in 50-year-old women. *Clin Physiol.* 1998;18(2):149-55.
346. Izumi S, Muano T, Mori A, *et al.* Common carotid artery stiffness, cardiovascular function and lipid metabolism after menopause. *Life Sci.* 2006;78(15):1696-701.
347. Staessen JA, van der Heijden-Spek JJ, Safar ME, *et al.* Menopause and the characteristics of the large arteries in a population study. *J Hum Hypertens.* 2001;15(8):511-8.
348. Takahashi K, Miura S, Mori-Abe A, *et al.* Impact of menopause on the augmentation of arterial stiffness with aging. *Gynecol Obstet Invest.* 2005;60(3):162-6.
349. Zaydun G, Tomiyama H, Hashimoto H, *et al.* Menopause is an independent factor augmenting the age-related increase in arterial stiffness in the early postmenopausal phase. *Atherosclerosis.* 2006;184(1):137-42.
350. Wildman RP, Schott LL, Brockwell S, *et al.* A dietary and exercise intervention slows menopause-associated progression of subclinical atherosclerosis as measured by intima-media thickness of the carotid arteries. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(3):579-85.
351. Johnson BD, Dwyer KM, Stanczyk FZ, *et al.* The relationship of menopausal status and rapid menopausal transition with carotid intima-media thickness progression in women: a report from the Los Angeles Atherosclerosis Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4432-40.
352. Ozkaya E, Cakir E, Okuyan E, *et al.* Comparison of the effects of surgical and natural menopause on carotid intima media thickness, osteoporosis, and homocysteine levels. *Menopause.* 2011;18(1):73-6.
353. Nabulsi AA, Folsom AR, Szklo M, *et al.* No association of menopause and hormone replacement therapy with carotid artery intima-media thickness. *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Circulation.* 1996;94(8):1857-63.
354. Sutton-Tyrrell K, Lassila HC, Meilahn E, *et al.* Carotid atherosclerosis in premenopausal and postmenopausal women and its association with risk factors measured after menopause. *Stroke.* 1998;29(6):1116-21.
355. Muscelli E, Kozakova M, Flyvbjerg A, *et al.* The effect of menopause on carotid artery remodeling, insulin sensitivity, and plasma adiponectin in healthy women. *Am J Hypertens.* 2009;22(4):364-70.
356. Matsumine H, Hirato K, Yanaihara T, *et al.* Aromatization by skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63(3):717-20.
357. Naftolin F, Ryan KJ, Davies IJ, *et al.* The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Recent Prog Horm Res.* 1975;31:295-319.

358. Miller WR. Aromatase activity in breast tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;39(5B):783-90.
359. Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocr Rev.* 1994;15(6):725-51.
360. Anderson DC. Sex-hormone-binding globulin. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1974;3(1):69-96.
361. Osawa Y, Higashiyama T, Shimizu Y, *et al.* Multiple functions of aromatase and the active site structure; aromatase is the placental estrogen 2-hydroxylase. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1993;44(4-6):469-80.
362. Gruber DM, Huber JC. Tissue specificity: the clinical importance of steroid metabolites in hormone replacement therapy. *Maturitas.* 2001;37(3):151-7.
363. Tang M, Abplanalp W, Subbiah MT. Association of estrogens with human plasma lipoproteins: studies using estradiol-17beta and its hydrophobic derivative. *J Lab Clin Med.* 1997;129(4):447-52.
364. Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, *et al.* Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol Cell Endocrinol.* 2009;308(1-2):9-16.
365. Thomas P, Pang Y, Filardo EJ, *et al.* Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. *Endocrinology.* 2005;146(2):624-32.
366. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, *et al.* A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science.* 2005;307(5715):1625-30.
367. Nilsson S, Makela S, Treuter E, *et al.* Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev.* 2001;81(4):1535-65.
368. Smith DF, Toft DO. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol.* 1993;7(1):4-11.
369. Pratt WB, Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev.* 1997;18(3):306-60.
370. Schlegel A, Wang C, Katzenellenbogen BS, *et al.* Caveolin-1 potentiates estrogen receptor alpha (ERalpha) signaling. caveolin-1 drives ligand-independent nuclear translocation and activation of ERalpha. *J Biol Chem.* 1999;274(47):33551-6.
371. Pettersson K, Grandien K, Kuiper GG, *et al.* Mouse estrogen receptor beta forms estrogen response element-binding heterodimers with estrogen receptor alpha. *Mol Endocrinol.* 1997;11(10):1486-96.
372. Mendelsohn ME. Genomic and nongenomic effects of estrogen in the vasculature. *Am J Cardiol.* 2002;90(1A):3F-6F.
373. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med.* 1999;340(23):1801-11.

374. Hall JM, Couse JF, Korach KS. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem.* 2001;276(40):36869-72.
375. Haynes MP, Russell KS, Bender JR. Molecular mechanisms of estrogen actions on the vasculature. *J Nucl Cardiol.* 2000;7(5):500-8.
376. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, *et al.* Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology.* 1997;138(3):863-70.
377. Meyer MR, Haas E, Barton M. Gender differences of cardiovascular disease: new perspectives for estrogen receptor signaling. *Hypertension.* 2006;47(6):1019-26.
378. Kim HP, Lee JY, Jeong JK, *et al.* Nongenomic stimulation of nitric oxide release by estrogen is mediated by estrogen receptor alpha localized in caveolae. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;263(1):257-62.
379. Nadal A, Rovira JM, Laribi O, *et al.* Rapid insulinotropic effect of 17beta-estradiol via a plasma membrane receptor. *FASEB J.* 1998;12(13):1341-8.
380. Watters JJ, Campbell JS, Cunningham MJ, *et al.* Rapid membrane effects of steroids in neuroblastoma cells: effects of estrogen on mitogen activated protein kinase signalling cascade and c-fos immediate early gene transcription. *Endocrinology.* 1997;138(9):4030-3.
381. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, *et al.* Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science.* 1995;270(5241):1491-4.
382. Collins P, Webb C. Estrogen hits the surface. *Nat Med.* 1999;5(10):1130-1.
383. Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation.* 1994;89(5):1943-50.
384. Venkov CD, Rankin AB, Vaughan DE. Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells. A potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation.* 1996;94(4):727-33.
385. Wiik A, Ekman M, Morgan G, *et al.* Oestrogen receptor beta is present in both muscle fibres and endothelial cells within human skeletal muscle tissue. *Histochem Cell Biol.* 2005;124(2):161-5.
386. Haas E, Meyer MR, Schurr U, *et al.* Differential effects of 17beta-estradiol on function and expression of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta, and GPR30 in arteries and veins of patients with atherosclerosis. *Hypertension.* 2007;49(6):1358-63.
387. Mercier I, Mader S, Calderone A. Tamoxifen and ICI 182,780 negatively influenced cardiac cell growth via an estrogen receptor-independent mechanism. *Cardiovasc Res.* 2003;59(4):883-92.
388. Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, *et al.* Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Circ Res.* 2003;93(2):170-7.

389. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med.* 1993;329(27):2002-12.
390. Lantin-Hermoso RL, Rosenfeld CR, Yuhanna IS, *et al.* Estrogen acutely stimulates nitric oxide synthase activity in fetal pulmonary artery endothelium. *Am J Physiol.* 1997;273(1 Pt 1):L119-26.
391. Caulin-Glaser T, Garcia-Cardena G, Sarrel P, *et al.* 17 beta-estradiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca²⁺ mobilization. *Circ Res.* 1997;81(5):885-92.
392. Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, *et al.* Estrogen receptor alpha mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest.* 1999;103(3):401-6.
393. Haynes MP, Sinha D, Russell KS, *et al.* Membrane estrogen receptor engagement activates endothelial nitric oxide synthase via the PI3-kinase-Akt pathway in human endothelial cells. *Circ Res.* 2000;87(8):677-82.
394. Aronica SM, Kraus WL, Katzenellenbogen BS. Estrogen action via the cAMP signaling pathway: stimulation of adenylate cyclase and cAMP-regulated gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(18):8517-21.
395. Le Mellay V, Grosse B, Lieberherr M. Phospholipase C beta and membrane action of calcitriol and estradiol. *J Biol Chem.* 1997;272(18):11902-7.
396. Kelly MJ, Levin ER. Rapid actions of plasma membrane estrogen receptors. *Trends Endocrinol Metab.* 2001;12(4):152-6.
397. Holden DP, Cartwright JE, Nussey SS, *et al.* Estrogen stimulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and the metabolism of asymmetric dimethylarginine. *Circulation.* 2003;108(13):1575-80.
398. Freay AD, Curtis SW, Korach KS, *et al.* Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by estrogen in depolarized rat and mouse aorta. Role of nuclear estrogen receptor and Ca²⁺ uptake. *Circ Res.* 1997;81(2):242-8.
399. Kitazawa T, Hamada E, Kitazawa K, *et al.* Non-genomic mechanism of 17 beta-oestradiol-induced inhibition of contraction in mammalian vascular smooth muscle. *J Physiol.* 1997;499 (Pt 2):497-511.
400. Haas E, Bhattacharya I, Brailoiu E, *et al.* Regulatory role of G protein-coupled estrogen receptor for vascular function and obesity. *Circ Res.* 2009;104(3):288-91.
401. Takada Y, Kato C, Kondo S, *et al.* Cloning of cDNAs encoding G protein-coupled receptor expressed in human endothelial cells exposed to fluid shear stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;240(3):737-41.

402. Levin ER. Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen. *Mol Endocrinol.* 2005;19(8):1951-9.
403. Meyer MR, Barton M. ERalpha, ERbeta, and gpER: novel aspects of oestrogen receptor signalling in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2009;83(4):605-10.
404. Sudhir K, Chou TM, Chatterjee K, *et al.* Premature coronary artery disease associated with a disruptive mutation in the estrogen receptor gene in a man. *Circulation.* 1997;96(10):3774-7.
405. Hodgins JB, Kregge JH, Reddick RL, *et al.* Estrogen receptor alpha is a major mediator of 17beta-estradiol's atheroprotective effects on lesion size in Apoe^{-/-} mice. *J Clin Invest.* 2001;107(3):333-40.
406. Pare G, Krust A, Karas RH, *et al.* Estrogen receptor-alpha mediates the protective effects of estrogen against vascular injury. *Circ Res.* 2002;90(10):1087-92.
407. O'Leone R, Knorr K, Jaffe IZ, *et al.* Estrogen receptors alpha and beta mediate distinct pathways of vascular gene expression, including genes involved in mitochondrial electron transport and generation of reactive oxygen species. *Mol Endocrinol.* 2007;21(6):1281-96.
408. Christian RC, Liu PY, Harrington S, *et al.* Intimal estrogen receptor (ER)beta, but not ERalpha expression, is correlated with coronary calcification and atherosclerosis in pre- and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(7):2713-20.
409. Matthews J, Gustafsson JA. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv.* 2003;3(5):281-92.
410. Traupe T, Stettler CD, Li H, *et al.* Distinct roles of estrogen receptors alpha and beta mediating acute vasodilation of epicardial coronary arteries. *Hypertension.* 2007;49(6):1364-70.
411. Santagati S, Gianazza E, Agrati P, *et al.* Oligonucleotide squelching reveals the mechanism of estrogen receptor autologous down-regulation. *Mol Endocrinol.* 1997;11(7):938-49.
412. Alarid ET, Bakopoulos N, Solodin N. Proteasome-mediated proteolysis of estrogen receptor: a novel component in autologous down-regulation. *Mol Endocrinol.* 1999;13(9):1522-34.
413. Read LD, Greene GL, Katzenellenbogen BS. Regulation of estrogen receptor messenger ribonucleic acid and protein levels in human breast cancer cell lines by sex steroid hormones, their antagonists, and growth factors. *Mol Endocrinol.* 1989;3(2):295-304.
414. Losordo DW, Kearney M, Kim EA, *et al.* Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. *Circulation.* 1994;89(4):1501-10.
415. Post WS, Goldschmidt-Clermont PJ, Wilhide CC, *et al.* Methylation of the estrogen receptor gene is associated with aging and atherosclerosis in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res.* 1999;43(4):985-91.

416. Kim J, Kim JY, Song KS, *et al.* Epigenetic changes in estrogen receptor beta gene in atherosclerotic cardiovascular tissues and in-vitro vascular senescence. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1772(1):72-80.
417. Nakamura Y, Suzuki T, Sasano H. Estrogen actions and in situ synthesis in human vascular smooth muscle cells and their correlation with atherosclerosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;93(2-5):263-8.
418. Umetani M, Domoto H, Gormley AK, *et al.* 27-Hydroxycholesterol is an endogenous SERM that inhibits the cardiovascular effects of estrogen. *Nat Med.* 2007;13(10):1185-92.
419. Rayner K, Chen YX, Hibbert B, *et al.* NM23-H2, an estrogen receptor beta-associated protein, shows diminished expression with progression of atherosclerosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292(2):R743-50.
420. Maclennan AH, Broadbent JL, Lester S, *et al.* Oral oestrogen and combined oestrogen/progestogen therapy versus placebo for hot flushes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(4):CD002978.
421. Bachmann GA. The clinical platform for the 17beta-estradiol vaginal releasing ring. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(5):S257-60.
422. Hickey M, Davis SR, Sturdee DW. Treatment of menopausal symptoms: what shall we do now? *Lancet.* 2005;366(9483):409-21.
423. Kiel DP, Felson DT, Anderson JJ, *et al.* Hip fracture and the use of estrogens in postmenopausal women. The Framingham Study. *N Engl J Med.* 1987;317(19):1169-74.
424. Cauley JA, Seeley DG, Ensrud K, *et al.* Estrogen replacement therapy and fractures in older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med.* 1995;122(1):9-16.
425. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, *et al.* Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 2004;291(14):1701-12.
426. Prestwood KM, Kenny AM, Kleppinger A, *et al.* Ultralow-dose micronized 17beta-estradiol and bone density and bone metabolism in older women: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003;290(8):1042-8.
427. Grodstein F, Martinez ME, Platz EA, *et al.* Postmenopausal hormone use and risk for colorectal cancer and adenoma. *Ann Intern Med.* 1998;128(9):705-12.
428. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, *et al.* Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 2002;288(3):321-33.
429. Ross RK, Paganini-Hill A, Wan PC, *et al.* Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(4):328-32.

430. Schairer C, Lubin J, Troisi R, *et al.* Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA*. 2000;283(4):485-91.
431. Holmberg L, Anderson H. HABITS (hormonal replacement therapy after breast cancer--is it safe?), a randomised comparison: trial stopped. *Lancet*. 2004;363(9407):453-5.
432. Biglia N, Cozzarella M, Cacciari F, *et al.* Menopause after breast cancer: a survey on breast cancer survivors. *Maturitas*. 2003;45(1):29-38.
433. Antunes CM, Strolley PD, Rosenshein NB, *et al.* Endometrial cancer and estrogen use. Report of a large case-control study. *N Engl J Med*. 1979;300(1):9-13.
434. Henderson BE, Casagrande JT, Pike MC, *et al.* The epidemiology of endometrial cancer in young women. *Br J Cancer*. 1983;47(6):749-56.
435. Paganini-Hill A, Ross RK, Henderson BE. Endometrial cancer and patterns of use of oestrogen replacement therapy: a cohort study. *Br J Cancer*. 1989;59(3):445-7.
436. Green PK, Weiss NS, McKnight B, *et al.* Risk of endometrial cancer following cessation of menopausal hormone use (Washington, United States). *Cancer Causes Control*. 1996;7(6):575-80.
437. Bjarnason K, Cerin A, Lindgren R, *et al.* Adverse endometrial effects during long cycle hormone replacement therapy. Scandinavian Long Cycle Study Group. *Maturitas*. 1999;32(3):161-70.
438. Pukkala E, Tulenheimo-Silfvast A, Leminen A. Incidence of cancer among women using long versus monthly cycle hormonal replacement therapy, Finland 1994-1997. *Cancer Causes Control*. 2001;12(2):111-5.
439. Weiderpass E, Adami HO, Baron JA, *et al.* Risk of endometrial cancer following estrogen replacement with and without progestins. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91(13):1131-7.
440. Wells M, Sturdee DW, Barlow DH, *et al.* Effect on endometrium of long term treatment with continuous combined oestrogen-progestogen replacement therapy: follow up study. *BMJ*. 2002;325(7358):239.
441. Daly E, Vessey MP, Hawkins MM, *et al.* Risk of venous thromboembolism in users of hormone replacement therapy. *Lancet*. 1996;348(9033):977-80.
442. Perez Gutthann S, Garcia Rodriguez LA, Castellsague J, *et al.* Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism: population based case-control study. *BMJ*. 1997;314(7083):796-800.
443. Cushman M, Kuller LH, Prentice R, *et al.* Estrogen plus progestin and risk of venous thrombosis. *JAMA*. 2004;292(13):1573-80.
444. Canonico M, Oger E, Plu-Bureau G, *et al.* Hormone therapy and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of the route of estrogen administration and progestogens: the ESTHER study. *Circulation*. 2007;115(7):840-5.

445. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, *et al.* Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med.* 1991;325(17):1196-204.
446. Nabulsi AA, Folsom AR, White A, *et al.* Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *N Engl J Med.* 1993;328(15):1069-75.
447. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial. *JAMA.* 1995;273(3):199-208.
448. Schram JH, Boerrigter PJ, The TY. Influence of two hormone replacement therapy regimens, oral oestradiol valerate and cyproterone acetate versus transdermal oestradiol and oral dydrogesterone, on lipid metabolism. *Maturitas.* 1995;22(2):121-30.
449. Haines CJ, Chung TK, Masarei JR, *et al.* An examination of the effect of combined cyclical hormone replacement therapy on lipoprotein(a) and other lipoproteins. *Atherosclerosis.* 1996;119(2):215-22.
450. Kim CJ, Min YK, Ryu WS, *et al.* Effect of hormone replacement therapy on lipoprotein(a) and lipid levels in postmenopausal women. Influence of various progestogens and duration of therapy. *Arch Intern Med.* 1996;156(15):1693-700.
451. Bongard V, Ferrieres J, Ruidavets JB, *et al.* Transdermal estrogen replacement therapy and plasma lipids in 693 French women. *Maturitas.* 1998;30(3):265-72.
452. Mercurio G, Vitale C, Fini M, *et al.* Lipid profiles and endothelial function with low-dose hormone replacement therapy in postmenopausal women at risk for coronary artery disease: a randomized trial. *Int J Cardiol.* 2003;89(2-3):257-65.
453. Saglam K, Polat Z, Yilmaz MI, *et al.* Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on insulin resistance. *Endocrine.* 2002;18(3):211-4.
454. Borissova AM, Tankova T, Kamenova P, *et al.* Effect of hormone replacement therapy on insulin secretion and insulin sensitivity in postmenopausal diabetic women. *Gynecol Endocrinol.* 2002;16(1):67-74.
455. Kimmerle R, Heinemann L, Heise T, *et al.* Influence of continuous combined estradiol-norethisterone acetate preparations on insulin sensitivity in postmenopausal nondiabetic women. *Menopause.* 1999;6(1):36-42.
456. Soranna L, Cucinelli F, Perri C, *et al.* Individual effect of E2 and dydrogesterone on insulin sensitivity in post-menopausal women. *J Endocrinol Invest.* 2002;25(6):547-50.
457. Kanaya AM, Herrington D, Vittinghoff E, *et al.* Glycemic effects of postmenopausal hormone therapy: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 2003;138(1):1-9.

458. Salpeter SR, Walsh JM, Ormiston TM, *et al.* Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Diabetes Obes Metab.* 2006;8(5):538-54.
459. Salomaa V, Rasi V, Pekkanen J, *et al.* Association of hormone replacement therapy with hemostatic and other cardiovascular risk factors. The FINRISK Hemostasis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(10):1549-55.
460. Effects on haemostasis of hormone replacement therapy with transdermal estradiol and oral sequential medroxyprogesterone acetate: a 1-year, double-blind, placebo-controlled study. The Writing Group for the Estradiol Clotting Factors Study. *Thromb Haemost.* 1996;75(3):476-80.
461. van Baal WM, Kenemans P, Emeis JJ, *et al.* Long-term effects of combined hormone replacement therapy on markers of endothelial function and inflammatory activity in healthy postmenopausal women. *Fertil Steril.* 1999;71(4):663-70.
462. Stork S, von Schacky C, Angerer P. The effect of 17beta-estradiol on endothelial and inflammatory markers in postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *Atherosclerosis.* 2002;165(2):301-7.
463. Shahar E, Folsom AR, Salomaa VV, *et al.* Relation of hormone-replacement therapy to measures of plasma fibrinolytic activity. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Circulation.* 1996;93(11):1970-5.
464. Koh KK, Mincemoyer R, Bui MN, *et al.* Effects of hormone-replacement therapy on fibrinolysis in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 1997;336(10):683-90.
465. Scarabin PY, Alhenc-Gelas M, Plu-Bureau G, *et al.* Effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. A randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):3071-8.
466. Bechlioulis A, Naka KK, Calis KA, *et al.* Cardiovascular effects of endogenous estrogen and hormone therapy. *Curr Vasc Pharmacol.* 2010;8(2):249-58.
467. Kalantaridou SN, Naka KK, Bechlioulis A, *et al.* Premature ovarian failure, endothelial dysfunction and estrogen-progestogen replacement. *Trends Endocrinol Metab.* 2006;17(3):101-9.
468. Holm P, Andersen HL, Andersen MR, *et al.* The direct antiatherogenic effect of estrogen is present, absent, or reversed, depending on the state of the arterial endothelium. A time course study in cholesterol-clamped rabbits. *Circulation.* 1999;100(16):1727-33.
469. Rosenfeld ME, Kausar K, Martin-McNulty B, *et al.* Estrogen inhibits the initiation of fatty streaks throughout the vasculature but does not inhibit intra-plaque hemorrhage and the progression of established lesions in apolipoprotein E deficient mice. *Atherosclerosis.* 2002;164(2):251-9.

470. Mikkola TS, Clarkson TB. Estrogen replacement therapy, atherosclerosis, and vascular function. *Cardiovasc Res.* 2002;53(3):605-19.
471. Adams MR, Register TC, Golden DL, *et al.* Medroxyprogesterone acetate antagonizes inhibitory effects of conjugated equine estrogens on coronary artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(1):217-21.
472. Clarkson TB, Anthony MS, Morgan TM. Inhibition of postmenopausal atherosclerosis progression: a comparison of the effects of conjugated equine estrogens and soy phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(1):41-7.
473. Mayer LP, Dyer CA, Eastgard RL, *et al.* Atherosclerotic lesion development in a novel ovary-intact mouse model of perimenopause. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(9):1910-6.
474. Hanke H, Hanke S, Bruck B, *et al.* Inhibition of the protective effect of estrogen by progesterone in experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1996;121(1):129-38.
475. Hanke H, Kamenz J, Hanke S, *et al.* Effect of 17-beta estradiol on pre-existing atherosclerotic lesions: role of the endothelium. *Atherosclerosis.* 1999;147(1):123-32.
476. Mullick AE, Walsh BA, Reiser KM, *et al.* Chronic estradiol treatment attenuates stiffening, glycoxidation, and permeability in rat carotid arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281(5):H2204-10.
477. Wagner JD, Clarkson TB, St Clair RW, *et al.* Estrogen and progesterone replacement therapy reduces low density lipoprotein accumulation in the coronary arteries of surgically postmenopausal cynomolgus monkeys. *J Clin Invest.* 1991;88(6):1995-2002.
478. St Clair RW. Effects of estrogens on macrophage foam cells: a potential target for the protective effects of estrogens on atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 1997;8(5):281-6.
479. Elhage R, Arnal JF, Pieraggi MT, *et al.* 17 beta-estradiol prevents fatty streak formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):2679-84.
480. Sack MN, Rader DJ, Cannon RO, 3rd. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet.* 1994;343(8892):269-70.
481. Shwaery GT, Vita JA, Keaney JF, Jr. Antioxidant protection of LDL by physiological concentrations of 17 beta-estradiol. Requirement for estradiol modification. *Circulation.* 1997;95(6):1378-85.
482. Mendelsohn ME, Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science.* 2005;308(5728):1583-7.
483. Koh KK, Bui MN, Mincemoyer R, *et al.* Effects of hormone therapy on inflammatory cell adhesion molecules in postmenopausal healthy women. *Am J Cardiol.* 1997;80(11):1505-7.
484. Koh KK, Blum A, Hathaway L, *et al.* Vascular effects of estrogen and vitamin E therapies in postmenopausal women. *Circulation.* 1999;100(18):1851-7.

485. Cushman M, Legault C, Barrett-Connor E, *et al.* Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study. *Circulation.* 1999;100(7):717-22.
486. Van Baal WM, Emeis JJ, Kenemans P, *et al.* Short-term hormone replacement therapy: reduced plasma levels of soluble adhesion molecules. *Eur J Clin Invest.* 1999;29(11):913-21.
487. Stork S, Baumann K, von Schacky C, *et al.* The effect of 17 beta-estradiol on MCP-1 serum levels in postmenopausal women. *Cardiovasc Res.* 2002;53(3):642-9.
488. Farzati A, Esposito K, Colacurci N, *et al.* Effects of transdermal hormone replacement therapy on levels of soluble P- and E-selectin in postmenopausal healthy women. *Fertil Steril.* 2002;77(3):476-80.
489. Silvestri A, Gebara O, Vitale C, *et al.* Increased levels of C-reactive protein after oral hormone replacement therapy may not be related to an increased inflammatory response. *Circulation.* 2003;107(25):3165-9.
490. Sumino H, Ichikawa S, Kasama S, *et al.* Different effects of oral conjugated estrogen and transdermal estradiol on arterial stiffness and vascular inflammatory markers in postmenopausal women. *Atherosclerosis.* 2006;189(2):436-42.
491. Hu P, Greendale GA, Palla SL, *et al.* The effects of hormone therapy on the markers of inflammation and endothelial function and plasma matrix metalloproteinase-9 level in postmenopausal women: the postmenopausal estrogen progestin intervention (PEPI) trial. *Atherosclerosis.* 2006;185(2):347-52.
492. Geraldes P, Gagnon S, Hadjadj S, *et al.* Estradiol blocks the induction of CD40 and CD40L expression on endothelial cells and prevents neutrophil adhesion: an ERalpha-mediated pathway. *Cardiovasc Res.* 2006;71(3):566-73.
493. Oviedo PJ, Hermenegildo C, Sobrino A, *et al.* Therapeutic dosages of oral or transdermal estradiol did not modify sCD40L levels in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol.* 2008;24(6):354-7.
494. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res.* 2002;90(3):251-62.
495. Christodoulakos GE, Panoulis CP, Lambrinouadaki IV, *et al.* The effect of hormone therapy and raloxifene on serum matrix metalloproteinase-2 and -9 in postmenopausal women. *Menopause.* 2004;11(3):299-305.
496. Ylikorkala O, Orpana A, Puolakka J, *et al.* Postmenopausal hormonal replacement decreases plasma levels of endothelin-1. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(11):3384-7.
497. Best PJ, Berger PB, Miller VM, *et al.* The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 1998;128(4):285-8.

498. Krasinski K, Spyridopoulos I, Asahara T, *et al.* Estradiol accelerates functional endothelial recovery after arterial injury. *Circulation*. 1997;95(7):1768-72.
499. Sudoh N, Toba K, Akishita M, *et al.* Estrogen prevents oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Circulation*. 2001;103(5):724-9.
500. Iwakura A, Luedemann C, Shastry S, *et al.* Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase-dependent mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury. *Circulation*. 2003;108(25):3115-21.
501. Williams JK, Anthony MS, Honore EK, *et al.* Regression of atherosclerosis in female monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(7):827-36.
502. Hodis HN, Mack WJ, Lobo RA, *et al.* Estrogen in the prevention of atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*. 2001;135(11):939-53.
503. Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, *et al.* Effects of estrogen replacement on the progression of coronary-artery atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2000;343(8):522-9.
504. Post MS, van der Mooren MJ, Stehouwer CD, *et al.* Effects of transdermal and oral oestrogen replacement therapy on C-reactive protein levels in postmenopausal women: a randomised, placebo-controlled trial. *Thromb Haemost*. 2002;88(4):605-10.
505. Lakoski SG, Brosnihan B, Herrington DM. Hormone therapy, C-reactive protein, and progression of atherosclerosis: data from the Estrogen Replacement on Progression of Coronary Artery Atherosclerosis (ERA) trial. *Am Heart J*. 2005;150(5):907-11.
506. Paraskevas KI, Mikhailidis DP. C-reactive protein (CRP): more than just an innocent bystander? *Curr Med Res Opin*. 2008;24(1):75-8.
507. Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, *et al.* C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(9):2094-9.
508. Evans MJ, Eckert A, Lai K, *et al.* Reciprocal antagonism between estrogen receptor and NF-kappaB activity in vivo. *Circ Res*. 2001;89(9):823-30.
509. Zanger D, Yang BK, Ardans J, *et al.* Divergent effects of hormone therapy on serum markers of inflammation in postmenopausal women with coronary artery disease on appropriate medical management. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(6):1797-802.
510. Lewandowski KC, Komarowski J, Mikhailidis DP, *et al.* Effects of hormone replacement therapy type and route of administration on plasma matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(8):3123-30.
511. Wakatsuki A, Ikenoue N, Okatani Y, *et al.* Estrogen-induced small low density lipoprotein particles may be atherogenic in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(2):425-30.

512. Wakatsuki A, Ikenoue N, Shinohara K, *et al.* Small low-density lipoprotein particles and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2004;177(2):329-36.
513. Vehkavaara S, Hakala-Ala-Pietila T, Virkamaki A, *et al.* Differential effects of oral and transdermal estrogen replacement therapy on endothelial function in postmenopausal women. *Circulation*. 2000;102(22):2687-93.
514. Koh KK, Jin DK, Yang SH, *et al.* Vascular effects of synthetic or natural progestagen combined with conjugated equine estrogen in healthy postmenopausal women. *Circulation*. 2001;103(15):1961-6.
515. Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N, *et al.* Effect of medroxyprogesterone acetate on endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women receiving estrogen. *Circulation*. 2001;104(15):1773-8.
516. de Kleijn MJ, Wilink HW, Bots ML, *et al.* Hormone replacement therapy and endothelial function. Results of a randomized controlled trial in healthy postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2001;159(2):357-65.
517. Guzic-Salobir B, Keber I, Seljeflot I, *et al.* Combined hormone replacement therapy improves endothelial function in healthy postmenopausal women. *J Intern Med*. 2001;250(6):508-15.
518. Hashimoto M, Miyao M, Akishita M, *et al.* Effects of long-term and reduced-dose hormone replacement therapy on endothelial function and intima-media thickness in postmenopausal women. *Menopause*. 2002;9(1):58-64.
519. Mares P, Dausat M, Abramovici Y. Hormone replacement therapy with estradiol valerate and cyproterone acetate: effects on endothelium-dependent vasodilatation and arterial wall compliance. *Maturitas*. 2002;42(1):45-53.
520. Sanada M, Higashi Y, Nakagawa K, *et al.* A comparison of low-dose and standard-dose oral estrogen on forearm endothelial function in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(3):1303-9.
521. Ossewaarde ME, Bots ML, van der Schouw YT, *et al.* Does the beneficial effect of HRT on endothelial function depend on lipid changes. *Maturitas*. 2003;45(1):47-54.
522. Wakatsuki A, Ikenoue N, Shinohara K, *et al.* Effect of lower dosage of oral conjugated equine estrogen on inflammatory markers and endothelial function in healthy postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(3):571-6.
523. Sherwood A, Bower JK, McFetridge-Durdle J, *et al.* Age moderates the short-term effects of transdermal 17beta-estradiol on endothelium-dependent vascular function in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(8):1782-7.

524. Gerhard M, Walsh BW, Tawakol A, *et al.* Estradiol therapy combined with progesterone and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Circulation*. 1998;98(12):1158-63.
525. Vitale C, Fini M, Leonardo F, *et al.* Effect of estradiol valerate alone or in association with cyproterone acetate upon vascular function of postmenopausal women at increased risk for cardiovascular disease. *Maturitas*. 2001;40(3):239-45.
526. Sanada M, Higashi Y, Nakagawa K, *et al.* Hormone replacement effects on endothelial function measured in the forearm resistance artery in normocholesterolemic and hypercholesterolemic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(10):4634-41.
527. Kawano H, Yasue H, Hirai N, *et al.* Effects of transdermal and oral estrogen supplementation on endothelial function, inflammation and cellular redox state. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2003;41(8):346-53.
528. Cagnacci A, Modena MG, Malmusi S, *et al.* Effect of prolonged administration of transdermal estradiol on flow-mediated endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in healthy postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 1999;84(3):367-70, A9-10.
529. Teede HJ, Liang YL, Kotsopoulos D, *et al.* A placebo-controlled trial of long-term oral combined continuous hormone replacement therapy in postmenopausal women: effects on arterial compliance and endothelial function. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;55(5):673-82.
530. Lim SC, Caballero AE, Arora S, *et al.* The effect of hormonal replacement therapy on the vascular reactivity and endothelial function of healthy individuals and individuals with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(11):4159-64.
531. Koh KK, Kang MH, Jin DK, *et al.* Vascular effects of estrogen in type II diabetic postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(5):1409-15.
532. Lee SJ, Lee DW, Kim KS, *et al.* Effect of estrogen on endothelial dysfunction in postmenopausal women with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;54 Suppl 2:S81-92.
533. Honisett SY, Stojanovska L, Sudhir K, *et al.* Hormone therapy impairs endothelial function in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus treated with rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(9):4615-9.
534. Haines CJ, Yim SF, Sanderson JE. The effect of continuous combined hormone replacement therapy on arterial reactivity in postmenopausal women with established angina pectoris. *Atherosclerosis*. 2001;159(2):467-70.
535. Herrington DM, Espeland MA, Crouse JR, 3rd, *et al.* Estrogen replacement and brachial artery flow-mediated vasodilation in older women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(12):1955-61.

536. Yeboah J, Reboussin DM, Waters D, *et al.* Effects of estrogen replacement with and without medroxyprogesterone acetate on brachial flow-mediated vasodilator responses in postmenopausal women with coronary artery disease. *Am Heart J.* 2007;153(3):439-44.
537. Westendorp IC, de Kleijn MJ, Bots ML, *et al.* The effect of hormone replacement therapy on arterial distensibility and compliance in perimenopausal women: a 2-year randomised trial. *Atherosclerosis.* 2000;152(1):149-57.
538. Rajkumar C, Kingwell BA, Cameron JD, *et al.* Hormonal therapy increases arterial compliance in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(2):350-6.
539. McGrath BP, Liang YL, Teede H, *et al.* Age-related deterioration in arterial structure and function in postmenopausal women: impact of hormone replacement therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(7):1149-56.
540. Westendorp IC, in 't Veld BA, Bots ML, *et al.* Hormone replacement therapy and intima-media thickness of the common carotid artery: the Rotterdam study. *Stroke.* 1999;30(12):2562-7.
541. Tremollieres FA, Cigagna F, Alquier C, *et al.* Effect of hormone replacement therapy on age-related increase in carotid artery intima-media thickness in postmenopausal women. *Atherosclerosis.* 2000;153(1):81-8.
542. Takahashi K, Tanaka E, Murakami M, *et al.* Long-term hormone replacement therapy delays the age related progression of carotid intima-media thickness in healthy postmenopausal women. *Maturitas.* 2004;49(2):170-7.
543. Karim R, Mack WJ, Lobo RA, *et al.* Determinants of the effect of estrogen on the progression of subclinical atherosclerosis: Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis Trial. *Menopause.* 2005;12(4):366-73.
544. Espeland MA, Applegate W, Furberg CD, *et al.* Estrogen replacement therapy and progression of intimal-medial thickness in the carotid arteries of postmenopausal women. ACAPS Investigators. Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Progression Study. *Am J Epidemiol.* 1995;142(10):1011-9.
545. de Kleijn MJ, Bots ML, Bak AA, *et al.* Hormone replacement therapy in perimenopausal women and 2-year change of carotid intima-media thickness. *Maturitas.* 1999;32(3):195-204.
546. Angerer P, Stork S, Kothny W, *et al.* Effect of oral postmenopausal hormone replacement on progression of atherosclerosis : a randomized, controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(2):262-8.
547. Byington RP, Furberg CD, Herrington DM, *et al.* Effect of estrogen plus progestin on progression of carotid atherosclerosis in postmenopausal women with heart disease: HERS B-mode substudy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(10):1692-7.

548. Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA*. 1991;265(14):1861-7.
549. Rosenberg L, Palmer JR, Shapiro S. A case-control study of myocardial infarction in relation to use of estrogen supplements. *Am J Epidemiol*. 1993;137(1):54-63.
550. Finucane FF, Madans JH, Bush TL, *et al*. Decreased risk of stroke among postmenopausal hormone users. Results from a national cohort. *Arch Intern Med*. 1993;153(1):73-9.
551. Varas-Lorenzo C, Garcia-Rodriguez LA, Perez-Gutthann S, *et al*. Hormone replacement therapy and incidence of acute myocardial infarction. A population-based nested case-control study. *Circulation*. 2000;101(22):2572-8.
552. Lokkegaard E, Jovanovic Z, Heitmann BL, *et al*. The association between early menopause and risk of ischaemic heart disease: influence of Hormone Therapy. *Maturitas*. 2006;53(2):226-33.
553. Grady D, Rubin SM, Petitti DB, *et al*. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med*. 1992;117(12):1016-37.
554. Barrett-Connor E, Grady D. Hormone replacement therapy, heart disease, and other considerations. *Annu Rev Public Health*. 1998;19:55-72.
555. Grodstein F, Stampfer MJ, Manson JE, *et al*. Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996;335(7):453-61.
556. Grodstein F, Manson JE, Colditz GA, *et al*. A prospective, observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med*. 2000;133(12):933-41.
557. Humphrey LL, Chan BK, Sox HC. Postmenopausal hormone replacement therapy and the primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med*. 2002;137(4):273-84.
558. Lokkegaard E, Andreasen AH, Jacobsen RK, *et al*. Hormone therapy and risk of myocardial infarction: a national register study. *Eur Heart J*. 2008;29(21):2660-8.
559. Manson JE, Hsia J, Johnson KC, *et al*. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2003;349(6):523-34.
560. Wassertheil-Smoller S, Hendrix SL, Limacher M, *et al*. Effect of estrogen plus progestin on stroke in postmenopausal women: the Women's Health Initiative: a randomized trial. *JAMA*. 2003;289(20):2673-84.
561. Hendrix SL, Wassertheil-Smoller S, Johnson KC, *et al*. Effects of conjugated equine estrogen on stroke in the Women's Health Initiative. *Circulation*. 2006;113(20):2425-34.
562. Hsia J, Criqui MH, Herrington DM, *et al*. Conjugated equine estrogens and peripheral arterial disease risk: the Women's Health Initiative. *Am Heart J*. 2006;152(1):170-6.
563. Manson JE, Allison MA, Rossouw JE, *et al*. Estrogen therapy and coronary-artery calcification. *N Engl J Med*. 2007;356(25):2591-602.

564. Rossouw JE, Prentice RL, Manson JE, *et al.* Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause. *JAMA.* 2007;297(13):1465-77.
565. Hormones and cardiovascular health in women. *Hum Reprod Update.* 2006;12(5):483-97.
566. Alexandersen P, Tanko LB, Bagger YZ, *et al.* The long-term impact of 2-3 years of hormone replacement therapy on cardiovascular mortality and atherosclerosis in healthy women. *Climacteric.* 2006;9(2):108-18.
567. Lobo RA. Evaluation of cardiovascular event rates with hormone therapy in healthy, early postmenopausal women: results from 2 large clinical trials. *Arch Intern Med.* 2004;164(5):482-4.
568. Salpeter SR, Walsh JM, Greyber E, *et al.* Brief report: Coronary heart disease events associated with hormone therapy in younger and older women. A meta-analysis. *J Gen Intern Med.* 2006;21(4):363-6.
569. Hulley S, Grady D, Bush T, *et al.* Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA.* 1998;280(7):605-13.
570. Grady D, Herrington D, Bittner V, *et al.* Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA.* 2002;288(1):49-57.
571. Furberg CD, Vittinghoff E, Davidson M, *et al.* Subgroup interactions in the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study: lessons learned. *Circulation.* 2002;105(8):917-22.
572. Cherry N, Gilmour K, Hannaford P, *et al.* Oestrogen therapy for prevention of reinfarction in postmenopausal women: a randomised placebo controlled trial. *Lancet.* 2002;360(9350):2001-8.
573. Clarke SC, Kelleher J, Lloyd-Jones H, *et al.* A study of hormone replacement therapy in postmenopausal women with ischaemic heart disease: the Papworth HRT atherosclerosis study. *BJOG.* 2002;109(9):1056-62.
574. Waters DD, Alderman EL, Hsia J, *et al.* Effects of hormone replacement therapy and antioxidant vitamin supplements on coronary atherosclerosis in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2002;288(19):2432-40.
575. Hodis HN, Mack WJ, Azen SP, *et al.* Hormone therapy and the progression of coronary-artery atherosclerosis in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 2003;349(6):535-45.
576. Viscoli CM, Brass LM, Kernan WN, *et al.* A clinical trial of estrogen-replacement therapy after ischemic stroke. *N Engl J Med.* 2001;345(17):1243-9.
577. Estrogen and progestogen use in peri- and postmenopausal women: March 2007 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause.* 2007;14(2):168-82.

578. Mendelsohn ME, Karas RH. HRT and the young at heart. *N Engl J Med.* 2007;356(25):2639-41.
579. Miller AP, Xing D, Feng W, *et al.* Aged rats lose vasoprotective and anti-inflammatory actions of estrogen in injured arteries. *Menopause.* 2007;14(2):251-60.
580. Pinna C, Cignarella A, Sanvito P, *et al.* Prolonged ovarian hormone deprivation impairs the protective vascular actions of estrogen receptor alpha agonists. *Hypertension.* 2008;51(4):1210-7.
581. Barton M, Meyer MR, Haas E. Hormone replacement therapy and atherosclerosis in postmenopausal women: does aging limit therapeutic benefits? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(8):1669-72.
582. Rossouw JE. Coronary heart disease in menopausal women: implications of primary and secondary prevention trials of hormones. *Maturitas.* 2005;51(1):51-63.
583. Wagner JD, Clarkson TB. The applicability of hormonal effects on atherosclerosis in animals to heart disease in postmenopausal women. *Semin Reprod Med.* 2005;23(2):149-56.
584. Stram DO, Liu Y, Henderson KD, *et al.* Age-specific effects of hormone therapy use on overall mortality and ischemic heart disease mortality among women in the California Teachers Study. *Menopause.* 2011;18(3):253-61.
585. Naftolin F, Taylor HS, Karas R, *et al.* The Women's Health Initiative could not have detected cardioprotective effects of starting hormone therapy during the menopausal transition. *Fertil Steril.* 2004;81(6):1498-501.
586. Menon DV, Vongpatanasin W. Effects of transdermal estrogen replacement therapy on cardiovascular risk factors. *Treat Endocrinol.* 2006;5(1):37-51.
587. Harman SM, Brinton EA, Cedars M, *et al.* KEEPS: The Kronos Early Estrogen Prevention Study. *Climacteric.* 2005;8(1):3-12.
588. Caulin-Glaser T, Farrell WJ, Pfau SE, *et al.* Modulation of circulating cellular adhesion molecules in postmenopausal women with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31(7):1555-60.
589. Dubey RK, Imthurn B, Barton M, *et al.* Vascular consequences of menopause and hormone therapy: importance of timing of treatment and type of estrogen. *Cardiovasc Res.* 2005;66(2):295-306.
590. Sudhir K, Elser MD, Jennings GL, *et al.* Estrogen supplementation decreases norepinephrine-induced vasoconstriction and total body norepinephrine spillover in perimenopausal women. *Hypertension.* 1997;30(6):1538-43.
591. Vongpatanasin W, Tuncel M, Mansour Y, *et al.* Transdermal estrogen replacement therapy decreases sympathetic activity in postmenopausal women. *Circulation.* 2001;103(24):2903-8.

592. Novensa L, Selent J, Pastor M, *et al.* Equine estrogens impair nitric oxide production and endothelial nitric oxide synthase transcription in human endothelial cells compared with the natural 17{beta}-estradiol. *Hypertension*. 2010;56(3):405-11.
593. Geary RL, Adams MR, Benjamin ME, *et al.* Conjugated equine estrogens inhibit progression of atherosclerosis but have no effect on intimal hyperplasia or arterial remodeling induced by balloon catheter injury in monkeys. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(5):1158-64.
594. Dubey RK, Tofovic SP, Jackson EK. Cardiovascular pharmacology of estradiol metabolites. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;308(2):403-9.
595. Grodstein F, Stampfer MJ, Falkeborn M, *et al.* Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease and hip fracture in a cohort of Swedish women. *Epidemiology*. 1999;10(5):476-80.
596. Smith NL, Heckbert SR, Lemaitre RN, *et al.* Esterified estrogens and conjugated equine estrogens and the risk of venous thrombosis. *JAMA*. 2004;292(13):1581-7.
597. Lemaitre RN, Weiss NS, Smith NL, *et al.* Esterified estrogen and conjugated equine estrogen and the risk of incident myocardial infarction and stroke. *Arch Intern Med*. 2006;166(4):399-404.
598. Koh KK, Shin MS, Sakuma I, *et al.* Effects of conventional or lower doses of hormone replacement therapy in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(8):1516-21.
599. Wingrove CS, Garr E, Godsland IF, *et al.* 17beta-oestradiol enhances release of matrix metalloproteinase-2 from human vascular smooth muscle cells. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1406(2):169-74.
600. Lacut K, Oger E, Le Gal G, *et al.* Differential effects of oral and transdermal postmenopausal estrogen replacement therapies on C-reactive protein. *Thromb Haemost*. 2003;90(1):124-31.
601. Ho JY, Chen MJ, Sheu WH, *et al.* Differential effects of oral conjugated equine estrogen and transdermal estrogen on atherosclerotic vascular disease risk markers and endothelial function in healthy postmenopausal women. *Hum Reprod*. 2006;21(10):2715-20.
602. Hoibraaten E, Os I, Seljeflot I, *et al.* The effects of hormone replacement therapy on hemostatic variables in women with angiographically verified coronary artery disease: results from the estrogen in women with atherosclerosis study. *Thromb Res*. 2000;98(1):19-27.
603. Brosnan JF, Sheppard BL, Norris LA. Haemostatic activation in post-menopausal women taking low-dose hormone therapy: less effect with transdermal administration? *Thromb Haemost*. 2007;97(4):558-65.

604. Scarabin PY, Oger E, Plu-Bureau G. Differential association of oral and transdermal oestrogen-replacement therapy with venous thromboembolism risk. *Lancet*. 2003;362(9382):428-32.
605. Renoux C, Dell'aniello S, Garbe E, *et al*. Transdermal and oral hormone replacement therapy and the risk of stroke: a nested case-control study. *BMJ*. 2010;340:c2519.
606. Kawano H, Motoyama T, Hirai N, *et al*. Effect of medroxyprogesterone acetate plus estradiol on endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 2001;87(2):238-40, A9.
607. Rosano GM, Vitale C, Silvestri A, *et al*. Metabolic and vascular effect of progestins in postmenopausal women. Implications for cardioprotection. *Maturitas*. 2003;46 Suppl 1:S17-29.
608. Levine RL, Chen SJ, Durand J, *et al*. Medroxyprogesterone attenuates estrogen-mediated inhibition of neointima formation after balloon injury of the rat carotid artery. *Circulation*. 1996;94(9):2221-7.
609. Meendering JR, Torgrimson BN, Miller NP, *et al*. Estrogen, medroxyprogesterone acetate, endothelial function, and biomarkers of cardiovascular risk in young women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(4):H1630-7.
610. Aygen EM, Basbug M, Tayyar M, *et al*. The effects of different doses of medroxyprogesterone acetate on serum lipids, lipoprotein levels and atherogenic index in the menopausal period. *Gynecol Endocrinol*. 1998;12(4):267-72.
611. Sanada M, Higashi Y, Nakagawa K, *et al*. Combination therapy of low-dose medroxyprogesterone acetate and oral estrogen does not affect endothelial function in the forearms of postmenopausal women. *Menopause*. 2002;9(5):360-6.
612. Honisett SY, Pang B, Stojanovska L, *et al*. Progesterone does not influence vascular function in postmenopausal women. *J Hypertens*. 2003;21(6):1145-9.
613. Otsuki M, Saito H, Xu X, *et al*. Progesterone, but not medroxyprogesterone, inhibits vascular cell adhesion molecule-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(2):243-8.
614. Sudhir K, Chou TM, Messina LM, *et al*. Endothelial dysfunction in a man with disruptive mutation in oestrogen-receptor gene. *Lancet*. 1997;349(9059):1146-7.
615. Wedren S, Lovmar L, Humphreys K, *et al*. Oestrogen receptor alpha gene haplotype and postmenopausal breast cancer risk: a case control study. *Breast Cancer Res*. 2004;6(4):R437-49.
616. Onland-Moret NC, van Gils CH, Roest M, *et al*. The estrogen receptor alpha gene and breast cancer risk (The Netherlands). *Cancer Causes Control*. 2005;16(10):1195-202.

617. Modugno F, Zmuda JM, Potter D, *et al.* Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with breast cancer risk in older Caucasian women. *Int J Cancer.* 2005;116(6):984-91.
618. Weiderpass E, Persson I, Melhus H, *et al.* Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and endometrial cancer risk. *Carcinogenesis.* 2000;21(4):623-7.
619. Iwamoto I, Fujino T, Douchi T, *et al.* Association of estrogen receptor alpha and beta3-adrenergic receptor polymorphisms with endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2003;102(3):506-11.
620. Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST, *et al.* Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA.* 2004;292(17):2105-14.
621. Gennari L, Merlotti D, De Paola V, *et al.* Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005;161(4):307-20.
622. Kjaergaard AD, Ellervik C, Tybjaerg-Hansen A, *et al.* Estrogen receptor alpha polymorphism and risk of cardiovascular disease, cancer, and hip fracture: cross-sectional, cohort, and case-control studies and a meta-analysis. *Circulation.* 2007;115(7):861-71.
623. Lehtimaki T, Kunnas TA, Mattila KM, *et al.* Coronary artery wall atherosclerosis in relation to the estrogen receptor 1 gene polymorphism: an autopsy study. *J Mol Med.* 2002;80(3):176-80.
624. Shearman AM, Cupples LA, Demissie S, *et al.* Association between estrogen receptor alpha gene variation and cardiovascular disease. *JAMA.* 2003;290(17):2263-70.
625. Schuit SC, Oei HH, Witteman JC, *et al.* Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and risk of myocardial infarction. *JAMA.* 2004;291(24):2969-77.
626. Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA, *et al.* Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. *N Engl J Med.* 2002;346(13):967-74.
627. Herrington DM, Howard TD, Brosnihan KB, *et al.* Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein. *Circulation.* 2002;105(16):1879-82.
628. Koivu TA, Fan YM, Mattila KM, *et al.* The effect of hormone replacement therapy on atherosclerotic severity in relation to ESR1 genotype in postmenopausal women. *Maturitas.* 2003;44(1):29-38.
629. Deng HW, Li J, Li JL, *et al.* Association of estrogen receptor-alpha genotypes with body mass index in normal healthy postmenopausal Caucasian women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(8):2748-51.
630. Okura T, Koda M, Ando F, *et al.* Association of polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene with body fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27(9):1020-7.

631. Lu H, Higashikata T, Inazu A, *et al.* Association of estrogen receptor-alpha gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(5):817-23.
632. Demissie S, Cupples LA, Shearman AM, *et al.* Estrogen receptor-alpha variants are associated with lipoprotein size distribution and particle levels in women: the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis.* 2006;185(1):210-8.
633. Jakimiuk AJ, Bogusiewicz M, Skorupski P, *et al.* Relationship between estrogen receptor-alpha polymorphism and serum levels of vascular cell adhesion molecule-1, intercellular adhesion molecule-1, C-reactive protein and homocysteine in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23(10):584-9.
634. Shearman AM, Cooper JA, Kotwinski PJ, *et al.* Estrogen receptor alpha gene variation is associated with risk of myocardial infarction in more than seven thousand men from five cohorts. *Circ Res.* 2006;98(5):590-2.
635. Shearman AM, Cooper JA, Kotwinski PJ, *et al.* Estrogen receptor alpha gene variation and the risk of stroke. *Stroke.* 2005;36(10):2281-2.
636. Rokach A, Pollak A, Rosen L, *et al.* Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with the angiographic extent of coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(12):6556-60.
637. Alevizaki M, Saltiki K, Cimponeriu A, *et al.* Severity of cardiovascular disease in postmenopausal women: associations with common estrogen receptor alpha polymorphic variants. *Eur J Endocrinol.* 2007;156(4):489-96.
638. Ferrero V, Ribichini F, Matullo G, *et al.* Estrogen receptor-alpha polymorphisms and angiographic outcome after coronary artery stenting. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(12):2223-8.
639. Lawlor DA, Timpson N, Ebrahim S, *et al.* The association of oestrogen receptor alpha-haplotypes with cardiovascular risk factors in the British Women's Heart and Health Study. *Eur Heart J.* 2006;27(13):1597-604.
640. Boroumand M, Ghaedi M, Mohammadtaghvaei N, *et al.* Lipid profile and inflammatory markers associated with estrogen receptor alpha PvuII and XbaI gene polymorphisms. *Transl Res.* 2009;153(6):288-95.
641. Koch W, Hoppmann P, Pfeufer A, *et al.* No replication of association between estrogen receptor alpha gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction in a large sample of patients of European descent. *Circulation.* 2005;112(14):2138-42.
642. Rossouw J, Bray P, Liu J, *et al.* Estrogen receptor polymorphisms and the vascular effects of hormone therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(2):464-9.

643. Lluís-Ganella C, Lucas G, Subirana I, *et al.* Qualitative assessment of previous evidence and an updated meta-analysis confirms lack of association between the ESR1 rs2234693 (PvuII) variant and coronary heart disease in men and women. *Atherosclerosis*. 2009;207(2):480-6.
644. Emre A, Sahin S, Erzik C, *et al.* Effect of hormone replacement therapy on plasma lipoproteins and apolipoproteins, endothelial function and myocardial perfusion in postmenopausal women with estrogen receptor-alpha IVS1-397 C/C genotype and established coronary artery disease. *Cardiology*. 2006;106(1):44-50.
645. Nogueira-de-Souza NC, Guerreiro da Silva ID, Carvalho CV, *et al.* Effect of estrogen receptor-alpha (ESR1) gene polymorphism on high density lipoprotein levels in response to hormone replacement therapy. *Braz J Med Biol Res*. 2009;42(12):1138-42.
646. Silvestri S, Thomsen AB, Gozzini A, *et al.* Estrogen receptor alpha and beta polymorphisms: is there an association with bone mineral density, plasma lipids, and response to postmenopausal hormone therapy? *Menopause*. 2006;13(3):451-61.
647. Pollak A, Rokach A, Blumenfeld A, *et al.* Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphism with the angiographic extent of coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2004;25(3):240-5.
648. Kunnas TA, Laippala P, Penttila A, *et al.* Association of polymorphism of human alpha oestrogen receptor gene with coronary artery disease in men: a necropsy study. *BMJ*. 2000;321(7256):273-4.
649. Hoetzer GL, Irmiger HM, Stauffer BL, *et al.* Estrogen receptor-alpha thymidine and adenine repeat polymorphism and endothelial fibrinolytic regulation in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(2):366-70.
650. Petrovic D, Peterlin B. Estrogen receptor dinucleotide (TA) polymorphism does not predict premature myocardial infarction in Caucasian women. *Cardiology*. 2003;99(3):163-5.
651. Mansur Ade P, Nogueira CC, Strunz CM, *et al.* Genetic polymorphisms of estrogen receptors in patients with premature coronary artery disease. *Arch Med Res*. 2005;36(5):511-7.
652. Almeida S, Franken N, Zandona MR, *et al.* Estrogen receptor 2 and progesterone receptor gene polymorphisms and lipid levels in women with different hormonal status. *Pharmacogenomics J*. 2005;5(1):30-4.
653. Rexrode KM, Ridker PM, Hegener HH, *et al.* Polymorphisms and haplotypes of the estrogen receptor-beta gene (ESR2) and cardiovascular disease in men and women. *Clin Chem*. 2007;53(10):1749-56.
654. Ogawa S, Emi M, Shiraki M, *et al.* Association of estrogen receptor beta (ESR2) gene polymorphism with blood pressure. *J Hum Genet*. 2000;45(6):327-30.

655. Eilertsen AL, Hoibraaten E, Os I, *et al.* The effects of oral and transdermal hormone replacement therapy on C-reactive protein levels and other inflammatory markers in women with high risk of thrombosis. *Maturitas.* 2005;52(2):111-8.
656. Schneider HP, Heinemann LA, Rosemeier HP, *et al.* The Menopause Rating Scale (MRS): comparison with Kupperman index and quality-of-life scale SF-36. *Climacteric.* 2000;3(1):50-8.
657. Crawford SL, Avis NE, Gold E, *et al.* Sensitivity and specificity of recalled vasomotor symptoms in a multiethnic cohort. *Am J Epidemiol.* 2008;168(12):1452-9.
658. Sumino H, Ichikawa S, Ohyama Y, *et al.* Effect of transdermal hormone replacement therapy on the monocyte chemoattractant protein-1 concentrations and other vascular inflammatory markers and on endothelial function in postmenopausal women. *Am J Cardiol.* 2005;96(1):148-53.
659. Shifren JL, Rifai N, Desindes S, *et al.* A comparison of the short-term effects of oral conjugated equine estrogens versus transdermal estradiol on C-reactive protein, other serum markers of inflammation, and other hepatic proteins in naturally menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1702-10.
660. Gatto NM, Hodis HN, Liu CR, *et al.* Brachial artery vasoreactivity is associated with cross-sectional and longitudinal anatomical measures of atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2008;196(2):674-81.
661. Halcox JP, Donald AE, Ellins E, *et al.* Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness. *Circulation.* 2009;119(7):1005-12.
662. Steffel J, Luscher TF. Predicting the development of atherosclerosis. *Circulation.* 2009;119(7):919-21.
663. Kuvin JT, Patel AR, Sidhu M, *et al.* Relation between high-density lipoprotein cholesterol and peripheral vasomotor function. *Am J Cardiol.* 2003;92(3):275-9.
664. Boden WE. High-density lipoprotein cholesterol as an independent risk factor in cardiovascular disease: assessing the data from Framingham to the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Am J Cardiol.* 2000;86(12A):19L-22L.
665. Paul TK, Chen W, Srinivasan SR, *et al.* Contrast of the impact of multiple cardiovascular risk factors on the femoral and carotid intima-media thickness in asymptomatic young adults: The Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis.* 2006;166(2):359-64.
666. Straczkowski M, Lewczuk P, Dzienis-Straczkowska S, *et al.* Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in obesity: relationship to insulin resistance and tumor necrosis factor-alpha system activity. *Metabolism.* 2002;51(1):75-8.

667. Glowinska B, Urban M, Peczynska J, *et al.* Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism*. 2005;54(8):1020-6.
668. Sassarini J, Fox H, Ferrell W, *et al.* Vascular function and cardiovascular risk factors in women with severe flushing. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(1):97-103.
669. Osmancik PP, Bednar F, Mocikova H. Glycemia, triglycerides and disease severity are best associated with higher platelet activity in patients with stable coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2007;24(2):105-7.
670. De Pergola G, Pannacciulli N, Coviello M, *et al.* sP-selectin plasma levels in obesity: association with insulin resistance and related metabolic and prothrombotic factors. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2008;18(3):227-32.
671. Castelli WP. The triglyceride issue: a view from Framingham. *Am Heart J*. 1986;112(2):432-7.
672. Mazza A, Tikhonoff V, Schiavon L, *et al.* Triglycerides + high-density-lipoprotein-cholesterol dyslipidaemia, a coronary risk factor in elderly women: the Cardiovascular Study in the ELderly. *Intern Med J*. 2005;35(10):604-10.
673. Gentile M, Panico S, Rubba F, *et al.* Obesity, overweight, and weight gain over adult life are main determinants of elevated hs-CRP in a cohort of Mediterranean women. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(8):873-8.
674. Mueck AO, Seeger H. Effect of hormone therapy on BP in normotensive and hypertensive postmenopausal women. *Maturitas*. 2004;49(3):189-203.
675. McInnes GT. Lowering blood pressure for cardiovascular risk reduction. *J Hypertens Suppl*. 2005;23(1):S3-8.
676. Mueck AO, Genazzani AR, Samsioe G, *et al.* Low-dose continuous combinations of hormone therapy and biochemical surrogate markers for vascular tone and inflammation: transdermal versus oral application. *Menopause*. 2007;14(6):978-84.
677. Lambrinoudaki I, Karafidou M, Kaparos G, *et al.* The effect of hormone therapy and tibolone on serum CD40L and ADAM-8 in healthy post-menopausal women. *J Endocrinol Invest*. 2010;33(10):720-4.
678. Bechlioulis A, Naka KK, Papanikolaou O, *et al.* Menopause and hormone therapy: from vascular endothelial function to cardiovascular disease. *Hellenic J Cardiol*. 2009;50(4):303-15.
679. Gast GC, Grobbee DE, Pop VJ, *et al.* Menopausal complaints are associated with cardiovascular risk factors. *Hypertension*. 2008;51(6):1492-8.
680. Gast GC, Samsioe GN, Grobbee DE, *et al.* Vasomotor symptoms, estradiol levels and cardiovascular risk profile in women. *Maturitas*. 2010;66(3):285-90.

681. Thurston RC, Sowers MR, Sutton-Tyrrell K, *et al.* Abdominal adiposity and hot flashes among midlife women. *Menopause.* 2008;15(3):429-34.
682. Gerber LM, Sievert LL, Warren K, *et al.* Hot flashes are associated with increased ambulatory systolic blood pressure. *Menopause.* 2007;14(2):308-15.
683. Leal M, Diaz J, Serrano E, *et al.* Hormone replacement therapy for oxidative stress in postmenopausal women with hot flushes. *Obstet Gynecol.* 2000;95(6 Pt 1):804-9.
684. Thurston RC, Sutton-Tyrrell K, Everson-Rose SA, *et al.* Hot flashes and subclinical cardiovascular disease: findings from the Study of Women's Health Across the Nation Heart Study. *Circulation.* 2008;118(12):1234-40.
685. Thurston RC, Sutton-Tyrrell K, Everson-Rose SA, *et al.* Hot flashes and carotid intima media thickness among midlife women. *Menopause.* 2011.
686. Tuomikoski P, Ebert P, Groop PH, *et al.* Evidence for a role of hot flashes in vascular function in recently postmenopausal women. *Obstet Gynecol.* 2009;113(4):902-8.
687. Tuomikoski P, Mikkola TS, Hamalainen E, *et al.* Biochemical markers for cardiovascular disease in recently postmenopausal women with or without hot flashes. *Menopause.* 2010;17(1):145-51.
688. Tuomikoski P, Haapalahti P, Ylikorkala O, *et al.* Vasomotor hot flashes and 24-hour ambulatory blood pressure in recently post-menopausal women. *Ann Med.* 2010;42(3):216-22.
689. Gast GC, Pop VJ, Samsioe GN, *et al.* Vasomotor menopausal symptoms are associated with increased risk of coronary heart disease. *Menopause.* 2011;18(2):146-51.
690. Svartberg J, von Muhlen D, Kritz-Silverstein D, *et al.* Vasomotor symptoms and mortality: the Rancho Bernardo Study. *Menopause.* 2009;16(5):888-91.
691. Szmuiłowicz ED, Manson JE, Rossouw JE, *et al.* Vasomotor symptoms and cardiovascular events in postmenopausal women. *Menopause.* 2011.
692. Allison MA, Manson JE, Aragaki A, *et al.* Vasomotor symptoms and coronary artery calcium in postmenopausal women. *Menopause.* 2010;17(6):1136-45.
693. Tuomikoski P, Ebert P, Groop PH, *et al.* Effect of hot flashes on vascular function: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* 2009;114(4):777-85.
694. Tuomikoski P, Mikkola TS, Tikkanen MJ, *et al.* Hot flashes and biochemical markers for cardiovascular disease: a randomized trial on hormone therapy. *Climacteric.* 2010;13(5):457-66.
695. Huang AJ, Sawaya GF, Vittinghoff E, *et al.* Hot flashes, coronary heart disease, and hormone therapy in postmenopausal women. *Menopause.* 2009;16(4):639-43.
696. Ginsburg J, Swinhoe J, O'Reilly B. Cardiovascular responses during the menopausal hot flush. *Br J Obstet Gynaecol.* 1981;88(9):925-30.

697. Freedman RR, Woodward S, Sabharwal SC. Alpha 2-adrenergic mechanism in menopausal hot flushes. *Obstet Gynecol.* 1990;76(4):573-8.
698. Palatini P. Sympathetic overactivity in hypertension: a risk factor for cardiovascular disease. *Curr Hypertens Rep.* 2001;3 Suppl 1:S3-9.
699. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation.* 1996;93(5):1043-65.
700. Thayer JF, Lane RD. The role of vagal function in the risk for cardiovascular disease and mortality. *Biol Psychol.* 2007;74(2):224-42.
701. Kop WJ, Verdino RJ, Gottdiener JS, *et al.* Changes in heart rate and heart rate variability before ambulatory ischemic events(1). *J Am Coll Cardiol.* 2001;38(3):742-9.
702. Meldrum DR, Defazio JD, Erlik Y, *et al.* Pituitary hormones during the menopausal hot flash. *Obstet Gynecol.* 1984;64(6):752-6.
703. Cagnacci A, Cannoletta M, Caretto S, *et al.* Increased cortisol level: a possible link between climacteric symptoms and cardiovascular risk factors. *Menopause.* 2011;18(3):273-8.
704. Ingelsson E, Syvanen AC, Lind L. Polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene and endothelial function in resistance and conduit arteries in the elderly. *Atherosclerosis.* 2008;199(1):162-71.
705. Gavin KM, Seals DR, Silver AE, *et al.* Vascular endothelial estrogen receptor alpha is modulated by estrogen status and related to endothelial function and endothelial nitric oxide synthase in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(9):3513-20.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά οι οποίες σχετίζονται με την παρούσα εργασία

1. Kalantaridou SN, Naka KK, **Bechlioulis A**, Makrigiannakis A, Michalis LK, Chrousos GP. Premature ovarian failure, endothelial dysfunction and estrogen-progestogen replacement. Trends Endocrinol Metab. 2006 Apr;17(3):101-9.
2. **Bechlioulis A**, Naka KK, Papanikolaou O, Kontostolis E, Kalantaridou SN, Michalis LK. Menopause and hormone therapy: from vascular endothelial function to cardiovascular disease. Hellenic J Cardiol. 2009 Jul-Aug;50(4):303-15.
3. **Bechlioulis A**, Naka KK, Calis KA, Makrigiannakis A, Michalis L, Kalantaridou SN. Cardiovascular effects of endogenous estrogen and hormone therapy. Curr Vasc Pharmacol. 2010 Mar;8(2):249-58.
4. **Bechlioulis A**, Kalantaridou SN, Naka KK, Chatzikyriakidou A, Calis KA, Makrigiannakis A, Papanikolaou O, Kaponis A, Katsouras C, Georgiou I, Chrousos GP, Michalis LK. Endothelial function, but not carotid intima-media thickness, is affected early in menopause and is associated with severity of hot flushes. J Clin Endocrinol Metab. 2010 Mar;95(3):1199-206.
5. **Bechlioulis A**, Naka KK, Kalantaridou SN, Chatzikyriakidou A, Papanikolaou O, Kaponis A, Vakalis K, Vezyraki P, Gartzonika K, Mavridis A, Georgiou I, Michalis LK. Short-term hormone therapy improves sCD40L and endothelial function in early menopausal women: potential role of estrogen receptor polymorphisms. Submitted (currently under review) in Maturitas (October 2011).

Ανακοινώσεις σε Ελληνικά ή Διεθνή ιατρικά συνέδρια οι οποίες σχετίζονται με την παρούσα εργασία

1. *American Society Reproductive Medicine Annual meeting 2007 – Oral presentation - S. Kalantaridou, **A. Bechlioulis**, L. Lavasidis, K. Naka, E. Paraskevaidis, L. Michalis. Continuous combined menopausal treatment with 17-beta-estradiol plus drospirenone*

improves vascular endothelial function in early postmenopausal women. *Fertility and Sterility* 2007;88:S242-S243.

2. *28^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση - **A Bechlioulis**, KK Naka, SN Kalantaridou, O Papanikolaou, A Kaponis, LK Michalis. Predictors of vascular function in early menopausal women. *Hellenic J Cardiol* 2007;48:A31*
3. *Σεμινάρια Ομάδων Εργασίας Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας 2008 - Προφορική ανακοίνωση - Ομάδα Εργασίας Αορτής και Περιφερικών Αγγείων: **A. Μπεγλιούλης**, Λειτουργικότητα των αγγείων σε νέες και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.*
4. *Σεμινάρια Ομάδων Εργασίας Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας 2008 - Αναρτημένη ανακοίνωση - **1ο Βραβείο** Ομάδα Εργασίας Αορτής και Περιφερικών Αγγείων. **A Bechlioulis**, KK Naka, A Chatzikyriakidou, SN Kalantaridou, O Papanikolaou, A Kaponis, K Vakalis, A Kotsia, P Vezyraki, I Georgiou, LK Michalis. Vascular function in young postmenopausal women: Hot flushes and sweats as a new indicator of endothelial dysfunction.*
5. *29^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση - **A Bechlioulis**, KK Naka, A Chatzikyriakidou, SN Kalantaridou, O Papanikolaou, A Kaponis, A Kotsia, K Vakalis, I Georgiou, LK Michalis. Effect of hormone therapy on endothelial function in early menopausal women; association with estrogen receptor gene polymorphisms *Hellenic J Cardiol* 2008;49:A43.*
6. *28^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση - **A Bechlioulis**, KK Naka, A Chatzikyriakidou, SN Kalantaridou, O Papanikolaou, A Kaponis, K Vakalis, P Vezyraki, I Georgiou, LK Michalis. Estrogen receptors gene polymorphisms: association with indices of vascular function in early menopausal women *Hellenic J Cardiol* 2008; 49:A43.*
7. *58th Annual Scientific Session American College of Cardiology – Poster presentation - **A Bechlioulis**, KK Naka, SN Kalantaridou, A Chatzikyriakidou, O Papanikolaou, A Kaponis, K Vakalis, A Kotsia, P Vezyraki, I Georgiou, LK Michalis. Hot Flashes Predict Endothelial Dysfunction in Early Menopausal Women. Effect of Estrogen Receptors Gene Polymorphisms. *J Am Coll Cardiol* 2009;53(10):A437*

8. 11^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μαιευτικής και Γυναικολογίας 2009 – Αναρτημένη ανακοίνωση - **A. Μπεγλιούλης**, ΣΝ. Καλανταρίδου, ΚΚ. Νάκα, Ο. Παπανικολάου, Α. Καπώνης, ΛΚ. Μιχάλης Η παρουσία εξάψεων προβλέπει επιδεινωμένη ενδοθηλιακή λειτουργία σε γυναίκες πρώιμης εμμηνόπαυσης – Επίδραση γενετικών πολυμορφισμών οιστρογονικών υποδοχέων.
9. 11^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μαιευτικής και Γυναικολογίας 2009 – Αναρτημένη ανακοίνωση - **A. Μπεγλιούλης**, ΣΝ. Καλανταρίδου, ΚΚ. Νάκα, Ο. Παπανικολάου, Α. Καπώνης, ΛΚ. Μιχάλης Επίδραση της ορμονικής θεραπείας στην ενδοθηλιακή λειτουργία γυναικών πρώιμης εμμηνόπαυσης – Συσχέτιση με γενετικούς πολυμορφισμούς οιστρογονικών υποδοχέων.
10. *European Society of Cardiology Congress 2010 – Poster presentation* - **A. Bechlioulis**, ΚΚ. Naka, A. Chatzikiyriakidou, S. Kalantaridou, O. Papanikolaou, A. Kaponis, K. Vakalis, P. Vezyraki, I. Georgiou, LK. Michalis. Effect of hormone replacement therapy on endothelial function in early menopausal women; association with estrogen receptor gene polymorphisms Eur Heart J 2010;31(Suppl 1):826

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά – Κεφάλαια βιβλίων που δεν σχετίζονται με την παρούσα εργασία

1. MG Tsiouras, TP Exarchos, C Papaloukas, **A Bechlioulis**, A Kotsia, T Nanou, C Bazios, Y Antoniou, DI Fotiadis, A Naka, LK Michalis. Automatic creation of decision support systems: Application and results in the cardiovascular domain The journal on information technology in healthcare 2006: 4(4):222-30
2. Simonet M, Patriarche R, **Bechlioulis A**, Bernhard D, Diallo G, Messai R, Gedzelmn S. Multilingual enrichment of an ontology of cardiovascular diseases. Computers in Cardiology 2006; 33:909-912
3. TP Exarchos, MG Tsiouras, C Papaloukas, **A Bechlioulis**, A Kotsia, T Nanou, C Bazios, Y Antoniou, DI Fotiadis, ΚΚ Naka, LK Michalis. A framework for decision support systems creation: Application to the cardiovascular diseases domain. P. Cunnin-

ham and M. Cunningham (eds), *Exploiting the knowledge economy: Issues, Applications, Case studies*, IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2006

4. MG Tsipouras, TP Exarchos, DI Fotiadis, **A Bechlioulis**, KK Naka. Decision support systems for cardiovascular diseases based on data mining and fuzzy modelling. N. Wickramasinghe and E. Geisler (eds), *Encyclopedia of Healthcare information systems*, Idea Group Inc (IGI), USA, 2008.
5. Naka KK, Kalantaridou SN, Kravariti M, **Bechlioulis A**, Kazakos N, Calis KA, Mavrikiannakis A, Katsouras CS, Chrousos GP, Tsatsoulis A, Michalis LK. Effect of the insulin sensitizers metformin and pioglitazone on endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome: a prospective randomized study. *Fertil Steril*. 2011 Jan;95(1):203-9.
6. Naka KK, Kalantaridou SN, **Bechlioulis A**, Kravariti M, Kazakos N, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. Effect of ethinylestradiol/cyproterone acetate on endothelial function in young non-obese women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Gynecol Endocrinol*. 2011 Sep;27(9):615-21.
7. Naka KK, Papathanassiou K, **Bechlioulis A**, Pappas K, Kazakos N, Kanioglou C, Papafaklis MI, Kostoula A, Vezyraki P, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Rosiglitazone improves endothelial function in patients with type 2 diabetes treated with insulin. *Diab Vasc Dis Res*. 2011 Jul;8(3):195-201.
8. Vlahos AP, Theocharis P, **Bechlioulis A**, Naka KK, Vakalis K, Papamichael ND, Alfantaki S, Gartzonika K, Mavridis A, Michalis LK, Siamopoulou A. Changes in Vascular Function and Structure in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011 Sep 8. doi: 10.1002/acr.20613. [Epub ahead of print]
9. Naka KK, Papathanassiou K, **Bechlioulis A**, Pappas K, Kazakos N, Kanioglou C, Kostoula A, Vezyraki P, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Effects of pioglitazone and metformin on vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes treated with sulfonylureas. *Diab Vasc Dis Res*. 2011 Nov 2. [Epub ahead of print]

Ανακοινώσεις σε Ελληνικά και Διεθνή ιατρικά συνέδρια οι οποίες δεν σχετίζονται με την παρούσα εργασία

1. *27^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση - **A Bechlioulis**, TP Exarchos, DI Fotiadis, MI Papafaklis, P Pilichowski, J Machecourt, CS Katsouras, LK Michalis. Prediction of clinical restenosis after percutaneous coronary intervention using computing techniques-NOESIS project. Hellenic J Cardiol 2006;47:B41*
2. *27^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση - KK Naka, M Kravariti, SN Kalantaridou, N Kazakos, **A Bechlioulis**, A Tsatsoulis, LK Michalis. The combination of oestrogens and antiandrogens reverses endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome. Hellenic J Cardiol 2006;47:B39*
3. *4th International Conference on Information Communication Technologies in Health (ICICTH) 2006 Samos - MG Tsipouras, TP Exarchos, C Papaloukas, **A Bechlioulis**, A Kotsia, T Nanou, C Bazios, Y Antoniou, DI Fotiadis, A Naka, LK Michalis. Automatic creation of decision support systems: Application and results in the cardiovascular domain*
4. *eChallenges 2006, Barcelona - TP Exarchos, MG Tsipouras, C Papaloukas, **A Bechlioulis**, A Kotsia, T Nanou, C Bazios, Y Antoniou, DI Fotiadis, KK Naka, LK Michalis. A framework for decision support systems creation: Application to the cardiovascular diseases domain*
5. *European Society of Cardiology Congress 2007 – Poster presentation - KK Naka, K Papathanasiou, **A Bechlioulis**, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis Predictors of endothelial function, arterial stiffness and vascular inflammation in type 2 diabetes patients. Eur Heart J 2007;28(Suppl 1):460*
6. *European Society of Cardiology Congress 2007 – Poster presentation - KK Naka, K Papathanasiou, N Kazakos, **A Bechlioulis**, K Pappas, K Liveris, D Makriyiannis, A Tsatsoulis, LK Michalis The insulin sensitizer rosiglitazone improves endothelial function in insulin-dependent patients with type 2 diabetes Eur Heart J 2007;28(Suppl 1):466*

7. *European Society of Cardiology Congress 2007 – Poster presentation* - KK Naka, K Papathanasiou, N Kazakos, **A Bechlioulis**, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis Sulphonylurea vs pioglitazone: effects on endothelial function in type 2 diabetes patients. *Eur Heart J* 2007;28(Suppl 1):466
8. *28^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση* - **A Bechlioulis**, K Naka, K Papathanasiou, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, A Kostoula, P. Vezyraki, A Tsatsoulis, LK Michalis Determinants of vascular function and inflammation in a type 2 diabetic population. *Hellenic J Cardiol* 2007;48:A31
9. *28^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση* - KK Naka, K Papathanasiou, **A Bechlioulis**, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis The insulin sensitizer pioglitazone improves endothelial function in non-insulin dependent patients with type 2 diabetes. *Hellenic J Cardiol* 2007;48:A110
10. *28^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση* - KK Naka, K Papathanasiou, **A Bechlioulis**, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis Sulphonylurea vs pioglitazone: effects on endothelial function in type 2 diabetic patients. *Hellenic J Cardiol* 2007;48:A113
11. *15th Paediatric Rheumatology European Society Congress - Oral presentation* - AP Vlahos, S Alfantaki, **A Bechlioulis**, K Vakalis, LK Michalis, A Siamopoulou. Early cardiovascular risk assessment in patients with juvenile idiopathic arthritis *Pediatr Rheumatol* 2008;6(Suppl 1):S30
12. *29^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση* - K Vakalis, KK Naka, **A Bechlioulis**, A Kotsia, C Bourantas, T Mparka, P Vezyraki, CS Katsouras, LK Michalis Increased aortic stiffness and low HDL predict the presence of coronary artery disease in patients with suspected CAD. *Hellenic J Cardiol* 2008;49:A29
13. *European Society of Cardiology Congress 2010 – Poster presentation* - K. Vakalis, KK. Naka, **A. Bechlioulis**, A. Kotsia, A. Chatzikyriakidou, C. Bourantas, I. Georgiou, P. Vezyraki, CS. Katsouras, LK. Michalis. Predictors of angiographic coronary artery disease (CAD) in patients with suspected CAD. Effect of emerging CAD-related single nucleotide polymorphisms *Eur Heart J* 2010;31(Suppl 1):807-808

14. Σεμινάρια Ομάδων Εργασίας Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας 2010 –Προφορική ανακοίνωση - Ομάδα Εργασίας Αορτής και Περιφερικών Αγγείων: **A. Μπεγλιούλης** - Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών - Δομικές και Λειτουργικές μεταβολές των Αρτηριών.
15. *Cardiovascular Research Technologies 2010* - D. Nikas, L. Kasselouri, A. Kallinteri, **A. Bechlioulis**, E. Pappa, E. Kountouris, K. Siogas - Effectiveness of new microbial sealant in reducing bacteremia, puncture site and sheath contamination after percutaneous interventions. A single center randomized study.
16. *17th Pediatric Rheumatology European Society Congress 2010 – Poster presentation* - AP Vlahos, P Theocharis, KK Naka, A Bechlioulis, K Vakalis, ND Papamichael, LK Michalis, S Alfantaki, A Siamopoulou. Vascular and cardiac diastolic function in children with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29(2):393
17. *European Society of Cardiology Congress 2011 – Oral presentation* - ND. Papamichael, **A. Bechlioulis**, K. Vakalis, C. Bourantas, A. Kotsia, LK. Michalis, CS. Katsouras, KK. Naka. Obesity paradox in patients with suspected stable coronary artery disease; role of arterial stiffness
18. *European Society of Cardiology Congress 2011 – Poster presentation* - **A. Bechlioulis**, K. Vakalis, K.K. Naka, N.D. Papamichael, C. Bourantas, A. Kotsia, C.S. Katsouras, L.K. Michalis. Association of metabolic syndrome and arterial stiffness with angiographic coronary artery disease. *Eur Heart J* 2011;32(Suppl 1):711
19. *European Society of Cardiology Congress 2011 – Poster presentation* - A. Vlahos, P. Theohari, **A. Bechlioulis**, K. Vakalis, KK. Naka, N. Papamichael, K. Gartzonika, A. Mavridis, A. Siamopoulou, LK. Michalis. Impairment of endothelial function, but not structural indices of vascular function, in children with juvenile idiopathic arthritis *Eur Heart J* 2011;32(Suppl 1): 200
20. *European Society of Cardiology Congress 2011 – Poster presentation* - KK. Naka, K. Papathanassiou, **A. Bechlioulis**, K. Pappas, N. Kazakos, C. Kanioglou, P. Vezyraki, D. Makriyiannis, A. Tsatsoulis, LK. Michalis. Effects of pioglitazone versus metformin on endothelial function in patients with type 2 diabetes treated with sulfonylureas *Eur Heart J* 2011;32(Suppl 1):65

21. 32^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση – Δ. Νίκας, Λ. Κασσελούρη, Α. Καλλιντέρη, Θ. Πότσης, **Α. Μπεγλιούλης**, Γ. Βόβας, Χ. Μπούτζας, Ε. Παππάς, Κ. Σιόγκας. Συχνότητα τοπικής και συστηματικής μικροβιακής επιμόλυνσης κατά τους διαδερμικούς καρδιακούς καθετηριασμούς. Διπλή τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη προστασίας με τη χρήση μεμβράνης αποκλεισμού μικροβίων INTEGU-SEAL*/KIMBERLY-CLARK. Hellenic J Cardiol 2011;52:A23
22. 32^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση – Α. Μπεγλιούλης, Κ. Παππάς, Σ. Γιαννίτση, Μ. Μπουγιακλή, Α. Κότσια, Α. Φωτόπουλος, ΚΚ. Νάκα, ΛΚ. Μιχάλης. Η διαγνωστική ακρίβεια θετικού για ισχαιμία σπινθηρογραφήματος μυοκαρδίου με ⁹⁹Tc σε σύγκριση με τη στεφανιογραφία. Εμπειρία ενός μεμονωμένου κέντρου. Hellenic J Cardiol 2011;52:A99

