

## Rola E-selektyny w procesach zapalnych i aterogennych – wpływ terapii hormonalnej okresu menopauzy

### *The role of E-selectin in inflammatory and atherogenic processes – the impact of hormonal therapy of the menopausal period*

Grzegorz Stachowiak, Tomasz Stetkiewicz, Ireneusz Połać, Anna Sobczuk,  
Sławomir Jędrzejczyk, Tomasz Pertyński

Klinika Ginekologii i Chorób Menopauzy Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi,  
kierownik Kliniki: prof. dr hab. med. Tomasz Pertyński

Przeгляд Menopauzalny 2006; 3: 153–158

#### Streszczenie

E-selektyna odgrywa bardzo ważną rolę w procesach zapalnych i aterogennych organizmu. Ekspresja tego białka błonowego pojawia się na zmienionych zapalnie komórkach śródbłonka jako odpowiedź na działanie cytokin prozapalnych. Jest ono obecne również na zmienionym miażdżycowo śródbłonku, szczególnie w obecności podśródbłonkowych nacieków leukocytarnych. Terapia hormonalna okresu menopauzy korzystnie wpływa (= redukuje) na poziomy E-selektyny, choć efekt zależy od dawki leku hormonalnego, rodzaju zastosowanego estrogenu lub progestagenu oraz wieku menopauzalnego, chorób towarzyszących i nałogów kobiet kwalifikowanych do tego rodzaju leczenia.

**Słowa kluczowe:** E-selektyna, zapalenie, miażdżyca, menopauza, terapia hormonalna

#### Summary

E-selectin plays a very important role in phlogistic and atherosclerotic processes of the human organism. Expression of this membrane protein is found on inflammatory endothelial cells as a result of the action of pro-inflammatory cytokines. This protein is also present on atheromatous endothelium with coexisting leucocytic infiltrations. Hormone therapy of the menopausal period favourably reduces E-selectin levels, however this effect is dependent on hormonal doses, type of estrogen and progestogen used as well as on menopausal age, accompanying illnesses and addictions of women qualified for this type of treatment.

**Key words:** E-selectin, inflammation, atherosclerosis, menopause, hormone therapy

Z analizy dostępnych danych na temat wpływu terapii hormonalnej (ang. *hormone therapy* – HT) na wzrost ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych w grupie kobiet menopauzalnych płynnie kilka istotnych wniosków:

- HT winna być rozpoczynana możliwie jak najwcześniej, zaraz po wystąpieniu wskazań;
- długość terapii należy ograniczać do niezbędnego minimum;

– przy kwalifikacji kobiet do HT należy zwrócić szczególną uwagę na obecność zmian miażdżycowych w układzie krążenia.

Właśnie m.in. zmianom miażdżycowym w tętnicach przypisuje się (obserwowany w zakończonych w ostatnich latach dużych badaniach) niepokojący wzrost częstości epizodów zakrzepowo-zatorowych w trakcie HT – w badaniu WHI średnia wieku kobiet, u których rozpoczynano HT wynosiła grubo ponad 60 lat, w związku

Adres do korespondencji:

dr n. med. **Grzegorz Stachowiak**, Klinika Ginekologii i Chorób Menopauzy Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki, ul. Rzgowska 281/283, 93-338 Łódź

z czym prawdopodobieństwo rozwiniętej miażdżycy w badanej populacji mogło być duże. Z drugiej strony, z analizy przeprowadzonej przez dr Grodstein (uczestniczka badania *Nurses Health Study* – NHS), wynika, że zarówno w badaniu NHS, jak i WHI, w przypadku, gdy HT rozpoczynano w grupie kobiet młodszych (w NHS do 4 lat po menopauzie, w badaniu WHI do 10 lat po menopauzie – stosunkowo nieliczna grupa), ryzyko zawału serca nie zwiększało się, lecz odwrotnie – w NHS było o 34% mniejsze, a w badaniu WHI uległo redukcji o 11% [1].

Właśnie, by HT uczynić bezpieczniejszą i zminimalizować ryzyko zakrzepowo-zatorowe, wskazane jest jej wczesne rozpoczynanie, u kobiet młodszych (najlepiej przed 50. rokiem życia), przed wystąpieniem u nich zmian miażdżycowych w układzie krążenia.

**Miażdżycy** jest procesem powolnym, który pierwsze objawy daje po wielu latach trwania. Morfologicznym wykładnikiem miażdżycy jest uszkodzenie (zarówno strukturalne, jak i czynnościowe) śródbłonna naczyniowego. Endotelium może zostać uszkodzone przez wiele różnorodnych czynników. Może to być podwyższony poziom katecholamin (stres), nikotyna, infekcja wirusowa, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze czy kompleksy immunologiczne. Szczególną rolę w rozwoju zmian miażdżycowych przypisuje się procesom zapalnym oraz zaburzeniom metabolizmu lipoprotein [2, 3].

W rozwoju procesów aterogennych wyróżnia się zwykle kilka etapów. Są to [4]:

- 1) dysfunkcja komórek endotelium;
- 2) przenikanie LDL do przestrzeni podśródbłonkowej i ich modyfikacja;
- 3) migracja monocytów do warstwy podśródbłonkowej, przekształcanie się ich w komórki piankowate oraz rozpad tych komórek;
- 4) trombogenezę oraz uwalnianie z trombocytów czynników wzrostu i substancji chemotaktycznych;
- 5) migracja miocytów z warstwy środkowej naczynia do warstwy wewnętrznej, z następowym ich rozplemem;
- 6) tworzenie się tkanki łącznej międzykomórkowej.

W ciągu ostatnich 10–15 lat pogląd na patogenezę miażdżycy i jej powikłania zmienił się znacząco – odstąpiono od przypisywania lipidom pierwszoplanowej roli, by obecnie zapalenie uważać za główny czynnik w aterogenezie i rozwoju choroby wieńcowej serca (ang. *coronary heart disease* – CHD) [5].

Ogólnie rzecz ujmując, sekwencja zmian patologicznych miażdżycy rozpoczyna się w endotelium, które zaczyna produkować molekuly adhezyjne VCAM-1 (ang. *vascular cell adhesion molecule*), dzięki którym monocyty i limfocyty T są przyłączane do powierzchni śródbłonna. Migracja leukocytów przez endotelium odbywa się dzięki cytokinie MCP-1 (ang. *monocyte chemoattractant protein-1*). Monocyty w przestrzeni błony wewnętrznej naczynia (intima) wychwytyują (zmodyfikowane) cząstecz-

ki lipoprotein, ulegając przekształceniu w komórki piankowate, po czym zaczynają wytwarzać cytokiny i metalloproteinazy matriksu (MMPs). MMPs przypisuje się dużą rolę w pęknięciu blaszki miażdżycowej, zakrzepicy przyściennej i wystąpieniu ostrych epizodów CHD [5]. W oparciu o dostępną literaturę można powiedzieć, że krążące markery zapalenia pełnią rolę czynników ryzyka dla niestabilnych przejawów aterosklerozy, jednak ciągle nie jest jasnym, czy w sposób aktywny uczestniczą w rozwoju i progresji zmian miażdżycowych [6].

Posłużono się więc zwierzęcym modelem zapalenia naczyń. Badaniom poddano małpy *Macaca fascicularis* po menopauzie chirurgicznej [7]. Stwierdzono znamieną korelację pomiędzy surowiczymi poziomami MCP-1, a w mniejszym stopniu i IL-6 a rozmiarem blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych i biodrowych. MCP-1 było również silnie powiązane z zapaleniem blaszki miażdżycowej i poziomem jej MMPs. Surowicze poziomy sVCAM i MCP-1 uległy zmniejszeniu pod wpływem skoniugowanych estrogenów końskich (ang. *conjugated equine estrogens* – CEE). CEE nie miały wpływu na surowicze stężenia IL-6, sE-selektyny oraz białka C-reaktywnego. W innym badaniu na małpach *Macaca fascicularis* stwierdzono, że mutacja MCP-1 o nazwie 7ND działa jako dominujący inhibitor MCP-1, wpływając na zmniejszenie rozmiaru blaszki miażdżycowej oraz mniejszą infiltrację makrofagami ściany tętnic biodrowych [8]. Autorzy obydwu badań sugerują, że MCP-1 może być świetnym markerem stopnia zaawansowania miażdżycy.

Uznając zapalenie za główny czynnik rozwoju zmian miażdżycowych, spróbujmy przypomnieć kilka podstawowych informacji o tym zjawisku.

**Zapalenie** (łac. *inflammatio*) – proces, w wyniku którego leukocyty wydostają się poza obręb światła naczynia krwionośnego do miejsca, w którym występuje patogen. Celem jest szybkie i selektywne zgromadzenie komórek zdolnych do usunięcia czynnika uszkodzającego. Towarzyszy temu zwiększenie przepuszczalności naczyń, dzięki czemu do zaatakowanej tkanki przedostają się również białka osocza (np. przeciwciała, składniki dopełniacza) pełniące różne funkcje obronne.

Nazwa *zapalenie* odnosi się nie tylko do reakcji miejscowej, lecz obejmuje również wiele ogólnoustrojowych reakcji organizmu. Wyróżnia się zatem:

– objawy miejscowe, klasycznie ujmowane w 5 punktach:

- zaczerwienienie (łac. *rubor*) – wynikające ze zwiększonego przepływu krwi w rejonie zapalenia;
- obrzmienie (łac. *tumor*) – jako skutek wycieku białek i komórek poza naczynia do tkanek;
- ból (łac. *dolor*) – powstający na skutek pobudzenia receptorów bólowych przez mediatory reakcji zapalnej i ucisk przez migrujące komórki układu odpornościowego;
- zwiększona ciepota (łac. *calor*) – będąca wynikiem zwiększonego przepływu krwi;

- upośledzenie funkcji (łac. *functio laesa*) danego narządu oraz
- objawy uogólnione w postaci gorączki czy tzw. *tamania w kościach*.

### Etapy reakcji zapalnej

Każda reakcja zapalna zachodzi na kilku etapach, które (dzięki pewnym różnicom) mogą doprowadzić do zupełnie odmiennych efektów końcowych. Ogólnie, w przebiegu zapalenia wyróżnia się 5 następujących etapów:

- marginację – zależną jedynie od fizycznych właściwości krwi;
- *toczenie się* – proces, którym biorą udział selektyny;
- aktywację – gdzie główną rolę odgrywają cytokiny (szczególnie ich duża grupa zwana chemokinami);
- ścisłą adhezję, zależną głównie od grupy białek o nazwie integryny oraz
- diapedezę czyli proces przechodzenia leukocyta przez barierę śródbłonka, a dalej przez tkanki do miejsca występowania danego antygeny.

### Marginacja

Jest to proces, polegający na wypchnięciu leukocytów z głównego strumienia krwi w kierunku ściany naczynia krwionośnego. Przebiega on w żyłkach pozakapilarnych – naczyniach znajdujących się tuż za siecią naczyń włosowatych. Istotnym jest fakt, że ścianę ww. naczyń stanowią jedynie komórki śródbłonka (brak warstwy mięśniowej), co ułatwia leukocytom przechodzenie do tkanek.

### Toczenie się

Zjawisko *toczenia się* (ang. *rolling*) jest następstwem marginacji. Leukocyty, stykając się z komórkami śródbłonka, napotyka tam selektyny. Na powierzchni leukocytów występują odpowiednie receptory, za pomocą których komórki te wiążą się z selektynami. Efektem tego wiązania jest chwilowe zaczepienie się komórki o śródbłonek, jednak napór wypływających z naczynia włosowatego osocza oraz innych komórek powoduje, że połączenie to jest zrywane, a sama komórka lekko obraca się, wiążąc się poprzez swe receptory z leżącymi dalej selektynami – powtarzanie ww. procesu sprawia, że leukocyt zaczyna *toczyć się* po śródbłonku. Zjawisko *toczenia się* leukocytów jest istotne, gdyż umożliwia ich aktywację. Jeżeli jednak leukocyt nie będzie posiadał receptorów dla określonych selektyn, nie wystąpi *toczenie się*, nie zajdą też dalsze etapy zapalenia. Znanych jest kilka selektyn, już na tym etapie, w zależności od ich składu na powierzchni śródbłonka oraz leukocyta może dojść do wstępnej selekcji określonych grup komórek odpornościowych.

### Aktywacja

Podczas *toczenia się* leukocyt łączy się nie tylko z selektynami, lecz za pomocą innych receptorów niejako *bada* powierzchnię śródbłonka. Jeżeli napotka określone substancje, dojdzie do jego aktywacji, jeśli nie – odłączy się od śródbłonka i wróci do głównego strumienia krwi. Najważniejszą rolę w procesie aktywacji odgrywają chemokiny. Znanych jest obecnie ponad 40 rodzajów cytokin oraz kilkanaście ich receptorów. Tak jak w wypadku selektyn, także tutaj leukocyt musi posiadać receptory dla chemokin występujących na śródbłonku. Jest to prawdopodobnie najważniejszy etap selekcji leukocytów w procesie zapalnym, gdyż poszczególne subpopulacje leukocytów charakteryzują się bardzo różnym składem tych receptorów. Z kolei to, jakie chemokiny znajdują się na powierzchni śródbłonka, zależy w znacznej mierze od charakteru antygeny, który wywołał reakcję zapalną. Na etapie aktywacji zostaje więc podjęta decyzja dotycząca wyboru mechanizmu, za pomocą którego zostanie usunięty patogen. Ma to duże znaczenie, gdyż inne mechanizmy uczestniczą w usuwaniu infekcji wirusowej, inne w zwalczaniu infekcji bakteryjnej.

### Ścisła adhezja

W wyniku aktywacji dochodzi do gruntownych zmian cytoszkieletu leukocyta, czego efektem jest gwałtowna zmiana kształtu komórki – z kulistego leukocyt staje się płaski i zaczyna mocno przylegać do śródbłonka. W ten sposób nie jest już narażony na silny prąd krwi i przestaje się *toczyć*. Etap ten, noszący miano ścisłej adhezji, jest możliwy dzięki pojawieniu się na powierzchni śródbłonka integryn i ich połączeniu się z receptorami powierzchni leukocytów. Także tutaj, podobnie jak w dwóch poprzednich przypadkach, dochodzi do selekcji komórek układu odpornościowego. Leukocyty zaczynają wypuszczać nibynóżki, co pozwala na ich *pełzanie* po śródbłonku. W efekcie docierają do miejsc, gdzie między komórkami śródbłonka występują przerwy. Zapoczątkowuje to proces diapedezy.

### Diapedeza

Polega na przechodzeniu leukocytów przez barierę śródbłonka oraz przemieszczaniu się przez tkankę do miejsca, w którym występuje patogen. Podczas diapedezy aktywowany leukocyt rozpoczyna wydzielanie szeregu enzymów, które trawią tkankę i torują mu drogę. Skąd jednak leukocyt *wie*, w którą stronę ma się poruszać? Istotną rolę odgrywają tu chemokiny wydzielane m.in. przez uszkodzone tkanki lub przez komórki pobudzone mediatorami z innych uszkodzonych komórek. Chemokiny i inne cytokiny, wydzielane w obecności patogenu, rozprzestrzeniają się w otaczających tkankach, a ich stężenie maleje wraz z odległością od miejsca występowania patogenu. Drogę do zagrożonego miejsca

wyznacza leukocytom rosnące stężenie chemokin – mamy zatem do czynienia z typową chemotaksją dodatnią. Po dotarciu do celu, zaktywowane uprzednio leukocyty rozpoczynają sprawować swoje funkcje obronne. Nawet tutaj jednak wciąż podlegają ścisłej regulacji, gwarantującej ostateczny sukces w zwalczeniu patogenów.

### Selektyny – białka procesu zapalnego

Selektyny są rodziną białek biorących zasadniczy udział w reakcji zapalnej organizmu. Występują one na powierzchni leukocytów oraz aktywowanych płytek krwi i komórek śródbłonna, gdzie są zakotwiczone – tak, jak większość białek błonowych – końcem N na zewnątrz. Selektyny są zbudowane w charakterystyczny sposób, w skład każdej cząsteczki wchodzi następujące domeny (licząc od końca N):

- domena lektynowa homologiczna z lektynami zależnymi od wapnia;
- domena EGF-podobna, wykazująca podobieństwo do naskórkowego czynnika wzrostu (ang. epidermal growth factor – EGF);
- domeny homologiczne z białkami regulującymi dopełniacz (CR), występujące w zmiennej liczbie 2–9 (zależnie od selektyny);
- fragment transmembranowy, przechodzący przez błonę komórkową i kotwiczący w niej całą cząsteczkę oraz stosunkowo krótki
- fragment wewnątrzkomórkowy.

Selektyny różnią się pomiędzy sobą głównie liczbą domen CR, choć różnice występują także w przypadku pozostałych domen. Wyróżnia się 3 główne rodzaje selektyn. Są to:

- L-selektyna (CD62L), inaczej leukocytarna, zawiera jedynie dwie domeny CR i jest najmniejszą cząsteczką tego typu (masa cząsteczkowa to 74–100 kDa). Występuje ona konstytutywnie na powierzchni monocytów, granulocytów oraz wielu limfocytów. L-selektyna występuje jednak głównie na powierzchni niewielkich żył o wysokim śródbłonnku, charakterystycznych dla unaczynienia węzłów chłonnych. Dlatego też pełni ona ważną rolę w rekrutacji limfocytów do tych narządów. Wykazano jej istotną rolę w ściąganiu neutrofilów do ognisk zapalnych. Podczas zapalenia L-selektyna współdziała z P-selektyną, a brak jednej z nich nie wpływa znacząco na proces *toczenia się*. Jednak, gdy brakuje obu selektyn, *toczenie się* nie zachodzi w ogóle.
- P-selektyna (CD62P), płytkowa, zawiera aż 9 domen CR i jest największą z selektyn o masie 140 kDa. Białko to występuje w ziarnistościach  $\alpha$  płytek krwi oraz w ciątkach Weibela-Pallade'a endotelocytów – dzięki temu już w kilka sekund po stymulacji komórki dochodzi do pojawienia się CD62P na jej powierzchni (nie trzeba bowiem więcej czasu na wyprodukowanie tego białka). Przesunięcie P-selektyny z ziarnistości do błony komórkowej następuje pod wpływem takich czyn-

ników, jak trombina, histamina, forbol. Również cytokiny prozapalne (np. IL-1) mogą indukować jej ekspresję. Rola CD62L polega głównie na jej udziale we wczesnych etapach *toczenia się*. Wykazano, że P-selektyna jest zdolna do samodzielnego zapoczątkowania *toczenia się* leukocytów podczas zapalenia i może kompensować brak E-selektyny (jednocześnie E-selektyna może z dużym powodzeniem zastępować P-selektynę).

- E-selektyna (CD62E) ma pośrednią masę cząsteczkową, co jest wynikiem obecności 6 domen CR. E-selektyna jest molekułą adhezyjną (mediuje adhezję neutrofilii, monocytów i komórek T pamięci do aktywowanych cytokinami endotelocytów), rozpoznającą sialylowane grupy karboksylowe, mające powinowactwo do rodzin Lewis X i Lewis A [9]. Ekspresja E-selektyny pojawia się na zmienionych zapalnie komórkach śródbłonna jako odpowiedź na działanie cytokin prozapalnych [10]. Wykazano, że jej funkcja, polegająca na mediowaniu *toczenia się* leukocytów jest znacznie mniej ważna niż analogiczna funkcja P-selektyny [11, 12]. Myszy z niedoborem E-selektyny mają bowiem tylko niewielki defekt *toczenia się* leukocytów [12]. Podstawową funkcją E-selektyny jest jej udział w przejściu leukocytów z etapu *toczenia się* do ścisłej adhezji po aktywacji komórki. U myszy z niedoborem E-selektyny obserwuje się zmniejszoną liczbę leukocytów, które uległy adhezji w odpowiedzi na czynnik chemotaktyczny lub stymulację cytokinową [13, 14]. Defekt ten może być związany z o wiele wyższymi prędkościami *toczenia się*, obserwowanymi w przypadku braku E-selektyny. E-selektyna może bowiem spowalniać ruch komórek *toczących się* po śródbłonnku. Gdy prędkość tego ruchu jest zbyt duża, komórka mimo aktywacji może w ogóle nie mieć szans na zmianę kształtu i przyłgnięcie do śródbłonna, nim dojdzie do miejsca żyłki, w którym zanikają selektyny, integryny i chemokiny. Brak genów dla P-selektyny i E-selektyny doprowadza do sytuacji, charakteryzującej się całkowitym brakiem napływu leukocytów do płynu mózgowo-rdzeniowego, zwiększoną produkcją leukocytów oraz całkowitym brakiem *toczenia się*. W normalnych warunkach E-selektyna występuje w mikronaczyniach skórnym, a w procesach zapalnych skóry wspomaga rekrutację specyficznych dla niej limfocytów T [15]. E-selektyna uczestniczy w o wiele wolniejszym *toczeniu się* niż P-selektyna. W zależności od stopnia ekspresji E-selektyny prędkości *toczenia się* wynoszą od mniej niż 5  $\mu\text{m/s}$  [12, 16] do ok. 15  $\mu\text{m/s}$  [13]. Szybkość *toczenia się* mediuwanego przez E-selektynę jest w znacznym stopniu niezależna od *shear rate* ściany naczyń.

Selektyny wiążą się z różnymi pod względem chemicznym odmianami białek, jednak najczęściej spotyka się wśród nich mucyny. Są to białka z cukrami przyłączonymi do nich za pomocą wiązania O-glikozydowego. E-selektyna posiada 2 ligandy: PSGL-1 i ESL-1 (występuje na powierzchni limfocytów podczas przewlekłego procesu zapalnego oraz na limfocytach zasiedlających skórę) [17].

W modelu zapalnym miażdżycy E-selektyna jest uważana za ważny czynnik tworzenia blaszki miażdżycowej. Jej ekspresja jest obecna na zmienionym miażdżycowo śródbłonku, w szczególności, gdy stwierdzana jest obecność podśródbłonkowych nacieków leukocytarnych [18]. LRP (ang. *lipoprotein receptor-related protein*), białko o masie 420 kDa, należy do nadrodziny receptorów LDL. Funkcjonuje jako multiligandowy receptor endocytarny, biorący udział w endocytozie szeregu cząsteczek, w tym t-PA, urokinazy i PAI-1 [19, 20]. Te rozpuszczalne ligandy wymienione wyżej ulegają przy jego pomocy endocytozie, są następnie szybko wychwytywane przez lizosomy (gdzie zachodzi ich rozkład), natomiast uwolniony od nich LRP wędruje z powrotem do błony komórkowej [21]. Odkryto ostatnio, że łączenie LRP z pewnymi ligandami ma związek ze zmianą kurczliwości ściany naczyń [22] oraz wpływa na przepuszczalność bariery krew-mózg [23]. LRP jest również receptorem dla czynnika płytkowego 4 (ang. *platelet factor 4*: PF4) – chemokiny o aterogennych właściwościach, wydzielanej przez aktywne płytki krwi. Przyłączenie tego ligandu do LRP indukuje w komórkach śródbłonka, poprzez aktywację jądrowego czynnika  $\kappa B$  (ang. *nuclear factor- $\kappa B$* : NF- $\kappa B$ ), syntezę mRNA E-selektyny, co daje efekt ostateczny w zwiększonej jej ekspresji na powierzchni endotelium [24]. Warto dodać, że komórki śródbłonka pod wpływem aktywowanych płytek syntetyzują także MCP-1 (ang. *monocyte chemoattractant protein-1*) i ICAM-1 (ang. *intercellular adhesion molecule 1*) – promuje to rekrutację i adhezję monocytów do ściany naczynia w warunkach wysokiego *shear rate* [25, 26]. Aktywacja płytek powoduje również, że uwalniana z nich interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) aktywuje komórki śródbłonka, zwiększając ich adhezyjność w stosunku do neutrofilii [27].

### E-selektyna a terapia hormonalna

W badaniu PEPI (n=365) wszystkie 4 typy HT spowodowały po 36 mies. znaczący spadek E-selektyny (średnio o 15%) oraz wzrost CRP (średnio o 85%) [28].

W innym badaniu HT – CEE plus MPA – nie miała wpływu na poziom E-selektyny w grupie kobiet po menopauzie [29].

48 tyg. doustnej HT w postaci 1 mg 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> oraz podawanego cyklicznie gestodenu (25  $\mu$ g w II fazie każdego cyklu lub co 3. cykl) spowodowało spadek poziomu E-selektyny (-11%), jak również ICAM-1 (-9%), VCAM-1 (-9%) i fibrynogenu (-12%). Terapia nie wpływała na poziomy CRP, natomiast w grupie palaczek stężenie E-selektyny nie uległo zmniejszeniu (ICAM-1 i VCAM-1 obniżyły się) [30].

6 mies. doustnej HT u kobiet po menopauzie ze zwiększonym ryzykiem chorób naczyniowych spowodowało wzrost CRP przy spadku E-selektyny, IL-6 i sTM (wpływ raczej na aktywność hepatocytów, a nie na odpowiedź ostrej fazy): doustna HT wydaje się zmniejszać nasilenie naczyniowej reakcji zapalnej [31].

Zarówno przezskórna, jak i doustna HT (17 $\beta$ -E<sub>2</sub> + NETA) po 6 mies. spowodowała spadek poziomów E-selektyny [32].

Przezskórna HT (50  $\mu$ g/dzień E<sub>2</sub> + 0,125 mg NETA) u kobiet pomenopauzalnych w ciągu 6 mies. spowodowała spadek poziomów E-selektyny. Doszło ponadto do spadku ACE, cholesterolu, LDL, HDL<sub>3</sub>, apolipoproteiny A i B, insuliny, czynnika VII i PAI-1; wzrosły D-dimery przy spadku F1+2 (brak było zmian w stężeniu metaloproteinazy-2 i wielkości cząsteczki LDL) [33].

Zastosowanie ET u 205 kobiet po menopauzie spowodowało spadek poziomów E-selektyny o -18% $\pm$ 4% (jednocześnie odnotowano wzrost poziomów białka C-reaktywnego, IL-6, ICAM, VCAM, sTM). U niektórych pacjentek terapia typu E/P spowodowała nie tylko wzrost CRP, lecz również wzrost E-selektyny (oraz ICAM, VCAM i sTM). Pacjentki z podniesionymi poziomami IL-6 były starsze, dłużej po menopauzie [34].

3-miesięczna doustna ET (CEE w dawkach 0,625 mg i 0,3125 mg) spowodowała u kobiet po menopauzie spadek stężeń E-selektyny (stężenia ICAM i VCAM pozostały na niezmiennym poziomie; natomiast wzrost CRP, amyloidu A i IL-6 obserwowano tylko w grupie stosującej 0,625 mg CEE) [35].

ET (tj. CEE w dawce 0,625 mg/dzień) w grupie pomenopauzalnych kobiet z cukrzycą typu II nie miała wpływu na poziomy E-selektyny, ICAM-1, VCAM-1, MCP-1 i MMP-9, co może świadczyć o braku korzystnego wpływu ww. terapii na stan śródbłonka naczyniowego w tej grupie pacjentek [36].

### Wpływ innych estrogenów i progestagenów

J 861 – pochodna 17beta-estradiolu – powoduje supresję E-selektyny i ICAM-1 bardziej efektywnie niż E<sub>2</sub> [37].

Również antykoncepcja doustna (ang. *oral contraception* – OC) w postaci niskich dawek etynyloestradiolu (20  $\mu$ g/dzień) (progestagenem był lewonorgestrel w dwóch dawkach 0,1 i 0,15 mg/dzień) spowodowała spadek poziomów E-selektyny po 3, 6 i 12 mies. terapii (obniżeniu uległy również poziomy VCAM-1) [38].

Fitoestrogeny w ciągu 3 mies. nie wpłynęły znacząco na poziomy E-selektyny (jak również na CRP i NO) kobiet pomenopauzalnych – brak protekcyjnego działania na naczynia [39].

### Podsumowanie

Pomenopauzalna HT korzystnie wpływa na ekspresję E-selektyny, choć efekt ten może być zredukowany przez zbyt dużą dawkę leku hormonalnego, dobór niewłaściwego estrogenu lub progestagenu, czy też choroby towarzyszące oraz nałogi kobiet (niewłaściwa kwalifikacja pacjentek!). Warto podkreślić również, że wraz z wiekiem menopauzalnym, HT może powodować nasilenie reakcji zapalnych i pogarszać funkcje śródbłonka.

## Piśmiennictwo

1. Grodstein F, Manson JE, Stanpfer MJ. Hormone therapy and coronary heart disease: the role of time since menopause and age at hormone initiation. *J Women Health* 2006; 15: 35-44.
2. Łopaciuk S. Zakrzepy i zatory. PZWL, Warszawa 2002.
3. Dembińska-Kieć A. Gospodarka lipidowa po menopauzie. *Pol Arch Med Wewn* 1998; 100: 211-9.
4. Mijatovic V, van der Mooren MJ, Stehouwer CDA, et al. Postmenopausal hormone replacement, risk estimators for coronary artery disease and cardiovascular protection. *Gynecol Endocrinol* 1999; 13: 130-44.
5. Libby P. Inflammation in atherogenesis. *Nature* 2002; 420: 868-74.
6. Lind L. Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 169: 203-14.
7. Clarkson TB. Monkey models of vascular inflammation. *Climacteric* 2005; 8 Suppl. 2, 35.
8. Kitamoto S, Nakano K, Hirouchi Y, et al. Cholesterol lowering independent regression and stabilization of atherosclerotic lesions by pravastatin and by antimonocyte chemoattractant protein-1 therapy in nonhuman primates. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1522-8.
9. Kogan TP, Revelle BM, Tapp S, et al. A single amino acid residue can determine the ligand specificity of E-selectin. *J Biol Chem* 1995; 270: 14047-55.
10. Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA Jr, et al. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science* 1989; 243: 1160-5.
11. Hickey MJ, Kanwar S, McCafferty DM, et al. Varying roles of E-selectin and P-selectin in different microvascular beds in response to antigen. *J Immunol* 1999; 162: 1137-43.
12. Kunkel EJ, Ley K. Distinct phenotype of E-selectin-deficient mice. E-selectin is required for slow leukocyte rolling in vivo. *Circ Res* 1996; 79: 1196-204.
13. Ley K, Allietta M, Bullard DC, et al. Importance of E-selectin for firm leukocyte adhesion in vivo. *Circ Res* 1998; 83: 287-94.
14. Milstone DS, Fukumura D, Padgett RC, et al. Mice lacking E-selectin show normal numbers of rolling leukocytes but reduced leukocyte stable arrest on cytokine-activated microvascular endothelium. *Microcirculation* 1998; 5: 153-71.
15. Picker LJ, Warnock RA, Burns AR, et al. The neutrophil selectin LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selectins ELAM-1 and GMP-140. *Cell* 1991; 66: 921-33.
16. Jung U, Ramos CL, Bullard DC, et al. Gene-targeted mice reveal importance of L-selectin-dependent rolling for neutrophil adhesion. *Am J Physiol* 1998; 274 (5 Pt 2): H1785-91.
17. Lenter M, Levinovitz A, Isenmann S, et al. Monospecific and common glycoprotein ligands for E- and P-selectin on myeloid cells. *J Cell Biol* 1994; 125: 471-81.
18. van der Wal AC, Das PK, Tigges AJ, et al. Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1992; 141: 1427-33.
19. Herz J, Strickland DK. LRP: a multifunctional scavenger and signaling receptor. *J Clin Invest* 2001; 108: 779-84.
20. Nykjaer A, Kjoller L, Cohen RL, et al. Regions involved in binding of urokinase-type 1 inhibitor complex and pro-urokinase to the endocytic alpha 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor related protein. Evidence that the urokinase receptor protects against binding to the endocytic receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 25668-76.
21. Li H, Kuo A, Kochan J, et al. Endocytosis of urokinase-plasminogen activator inhibitor type 1 complexes bound to a chimeric transmembrane urokinase receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 8153-8.
22. Nassar T, Akkawi S, Shina A, et al. In vitro and in vivo effects of tPA and PAI-1 on blood vessel tone. *Blood* 2004; 103: 897-902.
23. Yepes M, Sandkvist M, Moore EG, et al. Tissue-type plasminogen activator induces opening of the blood-brain barrier via the LDL receptor-related protein. *J Clin Invest* 2003; 112: 1533-40.
24. Yu G, Rux AH, Ma P, et al. Endothelial expression of E-selectin is induced by the platelet-specific chemokine platelet factor 4 through LRP in an NF- $\kappa$ B-dependent manner. *Blood* 2005; 105: 3545-51.
25. Holvoet P, Collen D. Thrombosis and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8: 320-8.
26. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998; 98: 1164-71.
27. Lindermann S, Tolley ND, Nixon DA, et al. Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1beta synthesis. *J Cell Biol* 2001; 154: 485-90.
28. 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: 717-22.
29. Sbarouni E, Kroupis C, Kyriakides ZS, et al. Cell adhesion molecules in relation to simvastatin and hormone replacement therapy in coronary artery disease. *Eur Heart J* 2000; 21: 975-80.
30. 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: 301-7.
31. 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: 3165-9.
32. Seed M, Sands RH, McLaren M, et al. The effect of hormone replacement therapy and route of administration on selected cardiovascular risk factors in post-menopausal women. *Fam Pract* 2000; 17: 497-507.
33. Stevenson JC, Oladipo A, Manassiev N, et al. Randomized trial of effect of transdermal continuous combined hormone replacement therapy on cardiovascular risk markers. *Br J Haematol* 2004; 124: 802-8.
34. Vitale C, Cornoldi A, Gebara O, et al. Interleukin-6 and flow-mediated dilatation as markers of increased vascular inflammation in women receiving hormone therapy. *Menopause* 2005; 12: 552-8.
35. 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: 571-6.
36. Koh KK, Kang MH, Jin DK, et al. Vascular effects of estrogen in type II diabetic postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1409-15.
37. Honjo H, Iwasa K, Fushiki S, et al. Estrogen and non-feminizing estrogen for Alzheimer's disease. *Endocr J* 2003; 50: 361-7.
38. Seeger H, Petersen G, Schulte-Wintrop E, et al. Effect of two oral contraceptives containing ethinylestradiol and levonorgestrel on serum and urinary surrogate markers of endothelial function. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2002; 40: 150-7.
39. Nikander E, Metsa-Heikkilä M, Tiitinen A, Ylikorkala O. Evidence of a lack of effect of a phytoestrogen regimen on the levels of C-reactive protein, E-selectin, and nitrate in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5180-5.