

Hemostaza płytkowa w okresie menopauzy

Platelet haemostasis during the menopausal period

Grzegorz Stachowiak, Agnieszka Zając, Tomasz Pertyński

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

Przeгляд Menopauzalny 2008; 4: 205–209

Streszczenie

Niniejszy artykuł stanowi przegląd aktualnej wiedzy na temat: 1) roli płytek krwi w układzie krążenia kobiet, 2) zmian w hemostazie płytkowej zachodzących w okresie menopauzy oraz 3) wpływu terapii hormonalnej (HT) na funkcje płytek. Odwracanie niekorzystnych, pomenopauzalnych zmian w hemostazie płytkowej przez określone rodzaje HT to jeden ważnych elementów bezpieczeństwa tej terapii, potwierdzających tezę, że odpowiednio wcześnie zastosowana HT nie zwiększa ryzyka wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego, a może działać kardioprotekcyjnie.

Słowa kluczowe: hemostaza, płytki krwi, menopauza, terapia hormonalna

Summary

This article is a review of the current data on: 1) the role of platelets in the female circulatory system, 2) alterations in platelet haemostasis during the menopausal period, and 3) the influence of hormone therapy (HT) on platelet functions. Reversal of postmenopausal changes in platelet haemostasis by some types of HT seems to be one of the important elements of this therapy, supporting the fact that HT, when administered properly, cannot increase the risk of cardiovascular diseases but acts as a cardioprotective factor.

Key words: haemostasis, platelets, menopause, hormone therapy

Okres menopauzy wiąże się z niekorzystnymi zmianami w hemostazie kobiet, co pociąga za sobą zwiększone ryzyko zachorowalności na schorzenia układu krążenia [1]. Ponieważ patologia płytek krwi (nadpłytkowość, zwiększona aktywacja) jest uważana za czynnik ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych zarówno w układzie tętniczym, jak i żylnym, warto przeanalizować dostępną wiedzę dotyczącą tego elementu hemostazy, mając na uwadze dobrostan kobiet oraz bezpieczeństwo stosowania u nich terapii hormonalnej okresu menopauzy (ang. *hormone therapy* – HT).

Wiadomości podstawowe

Płytki krwi są beźądrzastymi fragmentami cytoplazmy megakariocytów szpiku kostnego. Mają kształt dysku o średnicy $3,6 \pm 0,7 \mu\text{m}$ i objętość $7 \pm 4,8 \mu\text{m}^3$. Żyją 8–12 dni, a ok. 30% ich puli znajduje się w śledzionie. Z krwiobiegu są usuwane przez układ siateczkowo-śródbłonkowy [2].

Płytką krwi otoczona jest błoną komórkową złożoną z 2 warstw lipidowych, wśród których najczęściej występują fosfolipidy. W błonie komórkowej znajdują się liczne białka pełniące funkcje receptorów (głównie glikoproteiny – GP), enzymów oraz kanałów dla jonów i innych cząstek. Występują tu również liczne wgłębienia skierowane ku cytoplazmie, tworzące tzw. układ kanalików otwartych. Powierzchnia błony jest pokryta amorficznym płaszczem glikokaliksu o ujemnym ładunku elektrycznym (spowodowanym przez reszty kwasu sialowego). Złożoną strukturę przejawia również cytoplazma płytek krwi. Obwodowo w płytce występuje podbłonowy system kanalików okrążających tworzących tzw. cytoskielet płytkowy, odpowiedzialny za utrzymanie dyskooidalnego kształtu komórki oraz za jego zmiany w trakcie aktywacji. Zasadniczą składową cytoskieletu są białka kurczliwe – aktyna i miozyna, oraz dwa białka mikrokanalików – tubuliny α i β . Kolejną strukturą cytoplazmy płytek jest system kanalików gęstych – magazyn jonów

Adres do korespondencji:

dr med. **Grzegorz Stachowiak**, Klinika Ginekologii i Chorób Menopauzy, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź

Ca²⁺ oraz enzymów szlaku kwasu arachidonowego. Płytki zawierają też 4 typy ziarnistości – ziarnistości α, ziarnistości gęste, lizosomy i peroksosomy – źródło wielu biologicznie aktywnych substancji, które są uwalniane z płytek podczas ich aktywacji. Najbogatsze są ziarnistości α, zawierające białka swoiste dla płytek (czynnik płytkowy 4, β-tromboglobulina), białka adhezyjne (vWF, witronektyna, fibronektyna, trombospondyna), składniki układów krzepnięcia i fibrynolizy (czynniki I, V i XI, białko S, t-PA, PAI-1, inhibitor C1-esterazy, wielkocząsteczkowy kininogen), mitogeny (PDGF, PDECGF) oraz białka błonowe (m.in. P-selektyna, GP IIb/IIIa, GP Ib-IX, GP IV, GP V, osteonektyna). Uwalnianie do osocza czynnika płytkowego 4 (PF-4), β-tromboglobuliny (β-TG) oraz przemieszczenie na powierzchnię płytek P-selektyny to uznane wykładniki ich aktywacji *in vivo* [3].

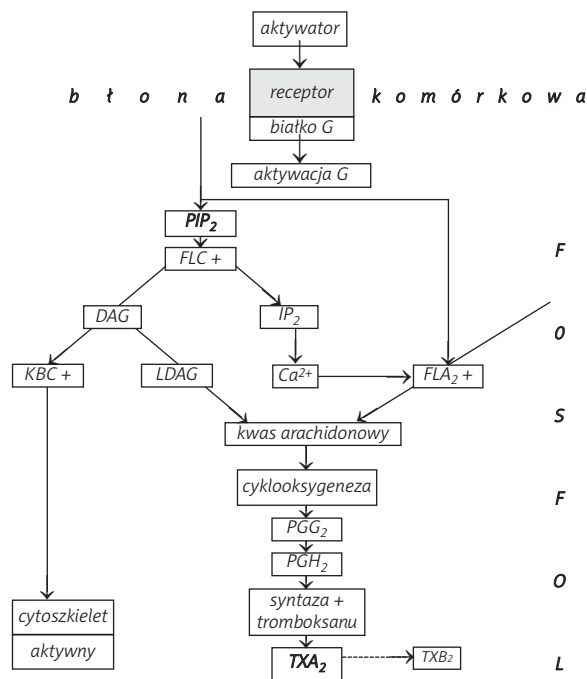
Płytki krwi pełnią w hemostazie 2 funkcje. Pierwszą jest tworzenie czopów hemostatycznych (hemostaza pierwotna), drugą udział w reakcjach krzepnięcia (hemostaza wtórna).

W procesie tworzenia płytkowego czopa hemostaticznego wyróżnia się 3 etapy – adhezję, aktywację i agregację płytek. Adhezja płytek krwi do składników podścielkowej tkanki łącznej jest zależna od warunków przepływu krwi w naczyniu oraz od obecności na powierzchni płytek specyficznych receptorów glikoproteinowych. Przy przepływie o niskim module ścinania (ang. *low shear rate*), charakterystycznym dla dużych naczyń, płytki wiążą się bezpośrednio z odsłoniętymi białkami tkanki łącznej – kolagenem (za pomocą kompleksu GP Ib-IX-V oraz receptora GP Ia-IIa), witronektyną

(za pomocą receptora α_vβ₃) oraz fibronektyną i lamininą (za pomocą GP Ic-IIa). W warunkach przepływu o wysokim module ścinania (ang. *high shear rate*) w małych naczyniach do adhezji pomiędzy płytkami (kompleks GP Ib-IX-V) a uszkodzoną ścianą naczynia niezbędny jest vWF – miejscem wiązania vWF jest łańcuch α GP Ib [4]. Adhezja płytek krwi do ściany naczynia inicjuje proces ich aktywacji. W jego wyniku dochodzi do zmian metabolizmu płytek, zmiany architektury ich cytoszkieletu (co powoduje zmianę kształtu płytki z dyskoidalnego na nieregularny, z licznymi pseudopodiami), uwolnienia substancji biologicznie czynnych z ziarnistości, translokacji białek i aktywacji receptorów integrynowych umożliwiających agregację płytek. W procesie aktywacji płytek ważną rolę odgrywa translacja sygnału aktywacyjnego do wnętrza komórki za pomocą białek błonowych G oraz kinaz tyrozynowych błony zewnętrznej płytki. Zachodząca wówczas hydroliza fosfolipidów błonowych uruchamia dwa podstawowe, powiązane ze sobą szlaki metaboliczne – szlak fosfolipazy C oraz kaskadę kwasu arachidonowego (AA). Fosfolipaza C rozkłada PIP₂ (difosforan fosfatydyloinozytolu) do IP₃ (trójfosforanu inozytolu, który uwalnia jony Ca²⁺ z kanalików gęstych do cytoplazmy, co skutkuje uaktywnieniem wielu enzymów, w tym fosfolipazy A₂) i DAG (diacyloglicerolu, który powoduje aktywację kinazy białkowej C odgrywającej bardzo ważną rolę w fosforyzacji białek cytoszkieletu i zmianie kształtu płytki). Natomiast uruchomienie kaskady AA prowadzi w płytkach, w wyniku aktywacji cyklooksygenazy i syntazy tromboksanu, do syntezy PGG₂, PGH₂ i końcowego produktu – tromboksanu A₂ (TXA₂), szybko ulegającego rozpadowi w nieczynny TXB₂ (okres półtrwania TXA₂ wynosi 30 s). TXA₂, PGG₂ i PGH₂ są silnymi wazokonstryktorami oraz powodują agregację płytek [5]. W płytkach krwi bardzo słabo wyrażone są aktywności lipooksygenazy (końcowy produkt 12-HETE, hamujący agregację płytek) i syntazy prostacykliny (końcowy produkt PGI₂). Podstawowe szlaki metaboliczne aktywacji płytek przedstawiono na ryc. 1.

Aktywacja płytek, poza adhezją, zachodzi również pod wpływem szeregu agonistów, do których zalicza się trombinę, kolagen, ADP, PAF, TXA₂, serotoninę, wazopresynę i adrenalinę. Inhibitorami aktywacji płytek krwi są natomiast prostacyklina (PGI₂), PGD₂, tlenek azotu, adenozylna [6]. Szczególną rolę odgrywa trombina, która aktywuje płytki poprzez czynnościowy receptor PAR-1 (ang. *protease-activated receptor 1*). Glikoproteina PAR-1 należy do rodziny serpentyn, ponieważ jej hydrofobowe domeny aż 7-krotnie przewijają się przez błonę komórkową. Trombina odszczepia od PAR-1 41 aminokwasów, co powoduje, że staje on się silnym aktywatorem i agregatorem płytek. Do pełnej aktywacji płytek przez trombinę wymagana jest obecność drugiego receptora – PAR-4 [7].

Końcowa faza powstawania płytkowego czopa hemostatycznego – agregacja – polega na łączeniu płytek za pomocą fibrynogenu. Zasadniczą rolę odgrywa tu



Ryc. 1. Schemat wewnętrzkomórkowych szlaków metabolicznych w aktywowanej płytce [6]

GP IIb/IIIa, należąca do dużej grupy integryn – białek receptorowych wiążących ze sobą składniki płynów ustrojowych, macierzy zewnątrzkomórkowej i powierzchni komórek, co powoduje ich adhezję i agregację. GP IIb/IIIa jest receptorem dla fibrynogenu na powierzchni płytek krwi. Jest to zależny od jonów Ca^{2+} , niekowalencyjny heterodimer podjednostki IIb (złożonej z łańcucha α o masie 120 kD i łańcucha β – 25 kD, zakotwiczonego C-końcem w błonie komórkowej; ww. łańcuchy łączy mostek dwusiarczkowy) i IIIa (98 kD, C-końcowy odcinek kotwicy ją również w błonie płytki). Charakterystyczną cechą GP IIb/IIIa, ale też innych integryn, jest to, że aktywacja komórkowa powoduje zmianę ich funkcji receptorowych. W spoczynku GP IIb/IIIa jest obecna na powierzchni płytki, a także w błonach układu otwartych kanalików i ziarnistości α . Aktywacja płytki wywołuje zmiany konformacyjne GP IIb/IIIa, co umożliwia wiązanie fibrynogenu (ale też vWF, trombospondyny, witronektyny i fibronektyny), powoduje też wzrost ilości receptora na powierzchni płytek (przesunięcie z puli wewnątrzkomórkowej). Tworzenie mostków fibrynogenowych pomiędzy GP IIb/IIIa pobudzonych płytek powoduje powstawanie agregatu płytkowego [8]. Z GP IIb/IIIa wiązane są sekwencje RGD (arginina-glicyna-kwas asparaginowy), występujące w łańcuchu α fibrynogenu (zdolność wiązania z płytką ma również końcowy odcinek łańcucha γ fibrynogenu). Substancje zawierające sekwencje RGD, np. dezintegryny jadu węży, hamują agregację płytek [9].

Udział płytek w krzepnięciu polega przede wszystkim na dostarczaniu fosfolipidów będących miejscem, gdzie wykrzepianie odbywa się bardzo szybko i wydajnie. Fosfolipidami o takich właściwościach są głównie fosfatydyloseryna i fosfatydyloetanoloamina, które w wyniku aktywacji płytek (np. za pomocą trombiny) są przesuwane z wewnętrznej warstwy błony komórkowej na zewnątrz płytki i stają się dostępne dla czynników krzepnięcia. Płytki są również źródłem czynnika V, który po uwolnieniu z ziarnistości α jest wiązany do powierzchni płytki, stanowiąc receptor dla czynnika X. Płytki nie biorą udziału w aktywacji zewnątrzpo pochodnego toru krzepnięcia, ponieważ nie zawierają TF [10].

Okres menopauzy

Z danych pochodzących z lat 80. i 90. XX w. wynika, że menopauza niekorzystnie wpływa na hemostazę płytkową. Choć u kobiet po menopauzie nie dochodzi do wzrostu liczby płytek krwi, stwierdza się ich zwiększoną aktywację. Jednym z produktów aktywacji płytek jest TXA_2 , a trombocyty są jego głównym źródłem w osoczu. Tromboksan A_2 nasila agregację płytek oraz powoduje skurcz naczyń, co może doprowadzić do powstania skrzepliny w łożysku naczyniowym. Jednak z powodu bardzo krótkiego okresu półtrwania TXA_2 , we krwi oznaczany jest nie on, lecz jego stabilny metabolit – TXB_2 . U kobiet po menopauzie stwierdza się stopniowe

zwiększenie stężenia TXB_2 . Duże stężenia TXB_2 są stwierdzane również u kobiet po obu stronnej owariektomii oraz u pacjentów z niestabilną postacią choroby wieńcowej serca. Aktywacja płytek ma znaczenie dla rozwoju procesów aterogennych oraz tworzenia zakrzepów w świetle naczyń [11–13].

Doniesienia z ostatnich lat dotyczące wpływu menopauzy na płytki krwi nie są do końca jednoznaczne:

- w stosunku do grupy kobiet premenopauzalnych (n=42, średni wiek – 39,38 roku), u kobiet po menopauzie (n=49; średni wiek – 56,16 roku) stwierdzano wyższe stężenia markerów aktywacji płytek krwi – CD 62P (czyli P-selektyny) oraz PAC-1 (ang. *procaspase activating compound-1*). W obu grupach stężenie CD 62P korelowało ze stężeniem osoczym E_2 , a PAC-1 z wiekiem kobiet [14];
- w grupie kobiet po menopauzie (n=27; średni wiek – 53 lata), w porównaniu z kobietami z grupy premenopauzalnej (n=10; średni wiek – 43,9 roku), odnotowano niższą ekspresję GP IIb/IIIa i P-selektyny na płytkach krwi, przy braku różnic międzygrupowych w stężeniu TXB_2 [15];
- w dwóch polskich badaniach [16, 17] stwierdzono zwiększoną aktywację płytek krwi u kobiet menopauzalnych, co manifestowało się zwiększonymi stężeniami β -TG. W pierwszym z ww. badań grupa kobiet po menopauzie charakteryzowała się, w porównaniu z kobietami przedmenopauzalnymi, zmniejszoną liczbą płytek krwi oraz wyższym odsetkiem form młodych. W drugim badaniu stężenia β -TG (i P-selektyny) kilkakrotnie przekraczały zakres normy, a stężenie β -TG było wyższe u kobiet z objawami depresyjnymi niż u kobiet bez tych objawów, co wskazuje na większe ryzyko zakrzepowo-zatorowe w tej grupie kobiet.

Terapia hormonalna

Także dane na temat wpływu steroidów płciowych i HT na hemostazę płytkową nie są spójne:

- stosowanie u kobiet po menopauzie (n=26) ze zwiększonym stężeniem cholesterolu niskodawkowej, doustnej HT (1 mg E_2 z 0,5 mg NETA dziennie) spowodowało spadek stężenia P-selektyny w osoczu ($p < 0,0001$) oraz słabą, wzrostową tendencję ($p = 0,13$) dla ekspresji P-selektyny na powierzchni płytek krwi [18];
- inkubacja płytek krwi zdrowych kobiet po menopauzie (n=15), z antygenem PI (A1/A1), w środowisku E_2 o stężeniu 10^{-11} mol/l, co odpowiadać ma stężeniu E_2 uzyskiwanemu podczas HT, powodowała wzrost agregacji płytek krwi pod wpływem epinefryny ($p = 0,03$), natomiast u kobiet z antygenem PI (A1/A2) ta sama inkubacja wywoływała skutek odwrotny – znaczny spadek agregacji ($p < 0,0001$) [19];
- stosowanie steroidów płciowych u zdrowych kobiet w wieku pomenopauzalnym spowodowało po 8 tyg. zwiększenie stężeń TXB_2 w grupie stosującej ciągłą,

doustną HT (n=8; E₂ + noretysteron), przy braku wpływu na ekspresję P-selektyny; w grupie stosującej sam E₂ (n=9) obserwowano natomiast zmniejszenie stężeń TXB₂ i również brak znamienych statystycznie zmian w ekspresji P-selektyny [20];

- zarówno doustna ET (n=16; E₂), jak i doustna, sekwencyjna HT (E₂ z trimegestonem, n=14, lub E₂ z dydrogesteronem, n=14) stosowana przez 12 tyg. u kobiet po menopauzie spowodowała wzrost aktywacji płytek krwi mierzonej wzrostem ekspresji P-selektyny i GP 53 na ich powierzchni [21];
- po 6 mies. stosowania ciągłej, doustnej HT (2 mg E₂ + 1 mg NETA/dobę) w grupie kobiet po menopauzie nie odnotowano znaczących zmian w parametrach agregacji płytek krwi; brak było również wpływu endogenego, pochodzącego z płytek NO, na parametry agregacji [22];
- już po 6 tyg. cyklicznej, doustnej HT (w dziennej dawce 0,625 mg CEE + 75 mg lewonorgestrelu w II fazie) obserwowano spadek zawartości kwasów tłuszczowych w błonie komórkowej płytek krwi (kwasu arachidonowego o 17,8%, kwasu linolenowego o 8,1%), niewielki (nieznaczący statystycznie) wzrost ich stężenia we krwi oraz wzrost średniej objętości płytek krwi, co może świadczyć o ich zwiększonej reaktywności podczas HT [23];
- z kolei inkubacja płytek krwi kobiet po menopauzie z E₂ powodowała 37-procentowy spadek mediowanej przez ADP agregacji (p=0,02) oraz 82-procentowy spadek uwalniania z nich ATP (p=0,03) – efekt ten był odwracalny przez antyestrogeny, takie jak 14-hydroksytamoksyfen i ICI 182780, lecz nie przez antyprogestageny (RU 486, ZK 98299); podobnie było w przypadku MPA, który powodował spadek agregacji o 28% (p=0,02) i spadek uwalniania ATP o 63% (p=0,02), świadczy to z jednej strony o korzystnym modulowaniu funkcji płytek *in vitro* przez ww. steroidy płciowe, z drugiej zaś o tym, że w przypadku płytek krwi (pozbawionych jąder komórkowych) steroidy płciowe mogą działać w mechanizmie innym niż klasyczna droga łączenia się steroidowego ligandu z receptorem jądrowym [24];
- również w innym badaniu *in vitro* inkubacja w środowisku E₂ powodowała spadek indukowanej ADP lub trombiną agregacji płytek krwi: E₂ miała wpływ na metabolizm Ca²⁺ oraz zwiększenie syntezy NO i cGMP przez płytki krwi Ca²⁺ [25]; ta sama grupa autorów japońskich stwierdziła następnie, tym razem już w badaniu *in vivo*, że stosowanie ET (CEE w dawce 0,625 mg/dobę) u kobiet menopauzalnych (n=18; średni wiek 53 lat, średnio 3,8 roku po menopauzie) korzystnie moduluje, głównie poprzez hamowanie napływu Ca²⁺ oraz wzrost produkcji cAMP, funkcje płytek krwi, co może być jednym z mechanizmów beneficjalnego oddziaływania estrogenów na układ sercowo-naczyniowy [26].

Dostępne dane na temat wpływu przezskórnej HT na płytki są nieliczne. W przypadku cyklicznego, przezskórnego podawania E₂ (50 µg/dobę) w połączeniu z do-

ustnym MPA u kobiet po menopauzie odnotowano spadek produkcji wolnych rodników (i redukcję oksydacji lipidów) w błonie komórkowej płytek krwi już w pierwszych 25 dniach terapii; efekt ten obserwowano również podczas podawania samego MPA (w dawce 20 mg/dobę) [27]. W innym badaniu, gdzie m.in. porównywano wpływ doustnej (2 mg E₂/dzień) i przezskórnej ET (50 µg E₂/dzień) na parametry aktywacji płytek krwi, stwierdzono, że obie drogi podania estrogenów nie miały wpływu zarówno na ekspresję P-selektyny, jak i na metabolizm Ca²⁺ w płytkach niestymulowanych. Po stymulacji trombiną cechy aktywacji płytek (wzrost ekspresji P-selektyny) były bardziej nasilone w grupie stosującej przezskórną E₂. Również wzrost stężenia Ca²⁺ w cytozolu (cecha aktywowanych płytek krwi), po stymulacji płytek za pomocą ADP, wystąpił tylko w grupie, gdzie E₂ (w tym przypadku w połączeniu z progesteronem) podawano przezskórną, a nie doustnie [28]. W badaniu włoskim przezskórna ET powodowała natomiast korzystny wzrost aktywności płytkowej NOS u zdrowych kobiet po menopauzie, co było obserwowane również w grupie kobiet pomenopauzalnych z cukrzycą typu 2 (choć w nieco mniejszym stopniu) [29].

Badania własne

W badaniach przeprowadzonych w latach 2002–2006 w Klinice Ginekologii i Chorób Menopauzy ICZMP w Łodzi stwierdzono, że w grupie kobiet po menopauzie hemostaza płytkowa ulega upośledzeniu, co manifestowało się wyższą ekspresją płytkowego receptora dla fibrynogeny – GP IIb/IIIa – w porównaniu z grupą kobiet przedmenopauzalnych.

Po zastosowaniu zaś w grupie kobiet pomenopauzalnych przezskórnej HT złożonej z 17β-estradiolu (50 µg/dobę) i NETA (170 µg/dobę) odnotowano korzystny wpływ ww. terapii na hemostazę płytkową, co przejawiało się spadkiem liczby PLT we krwi oraz spadkiem ekspresji GP IIb/IIIa.

Podsumowanie

Choć coraz więcej wiadomo o zaburzeniach w hemostazie płytkowej kobiet menopauzalnych i korzystnym wpływie HT, konieczne są dalsze badania, które pozwolą na zoptymalizowanie wyboru odpowiedniego typu HT (droga podania, dawka, rodzaj progestagenu) i zminimalizowanie ryzyka ww. terapii.

Piśmiennictwo

1. Kornacewicz-Jach Z, Podolec P, Kopeć G i wsp. Konsensus Rady Redakcyjnej Polskiego Forum Profilaktyki Chorób Układu Krążenia dotyczący profilaktyki chorób układu krążenia u kobiet. Forum Profilaktyki 2006; 3: 1.
2. Movat HZ, Weiser WJ, Glynn MF, Mustard JF. Platelet phagocytosis and aggregation. J Cell Biol 1965; 27: 531-43.

3. Parise LV, Smyth SS, Collier BS. Platelet morphology, biochemistry and function. In: Williams Hematology. Beutler E, Lichtman MA, Collier B, et al. (eds). New York 2001; 1357-408.
4. Andrews RK, Shen Y, Gardiner EE, et al. The glycoprotein Ib-IX-V complex in platelet adhesion and signaling. *Thromb Haemost* 1999; 82: 357-64.
5. Sigal E. The molecular biology of mammalian arachidonic acid metabolism. *Am J Physiol* 1991; 260 (2 pt 1): L13-28.
6. Plow EF, Ginsberg MH. The molecular basis for platelet function. In: Hematology. Basic principles and practice. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al. (eds). Churchill Livingstone. New York, Edinburgh, Londyn, Philadelphia, San Francisco 2000; 1741-52.
7. Coughlin SR, Vu TKH, Hung DT, et al. Characterization of a functional thrombin receptor. *J Clin Invest* 1992; 89: 351-5.
8. Calvete JJ. Clues for understanding the structure and function of a prototypic human integrin: the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex. *Thromb Haemost* 1994; 72: 1-15.
9. Niewiarowski S, McLane MA, Kloczewiak M, et al. Desintegrins and naturally occurring antagonists of platelet fibrinogen receptors. *Semin Hematol* 1994; 31: 289-300.
10. Schroit AJ, Zwaal RFA. Transbilayer movement of phospholipides in red cell and platelet membrane. *Bioch Biophys Acta* 1991; 1071: 311-29.
11. Aune B, Oian P, Omsjo I, Osterud B. Hormone replacement therapy reduces the reactivity of monocytes and platelets in whole blood – A beneficial effect on atherogenesis and thrombus formation? *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1816-20.
12. Balteskard L, Brox JH, Osterud B. Thromboxane production in the blood of women increases after menopause whereas tumor necrosis factor is reduced in women compared with men. *Atherosclerosis* 1993; 102: 91-8.
13. Punnonen R, Seppala E, Punnonen K. Effect of ovariectomy in humans on serum 6-keto-PGF1 β and TBX2 concentrations and platelet fatty acids. *Prostaglandins Leukot Med* 1987; 26: 85-9.
14. Roshan TM, Normah J, Rehman A, et al. Effect of menopause on platelets activation markers determined by cytometry. *Am J Hematol* 2005; 80: 257-61.
15. Aldrighi JM, Oliveira RL, D'Amico E, et al. Platelet activation status decreases after menopause. *Gynecol Endocrinol* 2005; 20: 249-57.
16. Butkiewicz AM, Kemon H, Dymicka-Piekarska V i wsp. Does menopause affect thrombocytopoiesis and platelet activation? *Przegl Lek* 2006; 63: 1291-3.
17. Mantur M, Tomczak AA, Chrzanowski W, et al. SP-selectin and beta-TG as serum markers of platelet activation in menopausal women with depression. *Pol Merkur Lek* 2006; 20: 682-4.
18. Peverill RE, Smolich JJ, Malan E, et al. Comparison of effects of pravastatin and hormone therapy on soluble P-selectin and platelet P-selectin expression in postmenopausal hypercholesterolemic women. *Maturitas* 2006; 53: 158-65.
19. Boudoulas KD, Montague CR, Goldschmidt-Clermont PJ, et al. Estradiol increases platelet aggregation in PI (A1/A1) individuals. *Am Heart J* 2006; 52: 136-9.
20. Oliveira RL, Aldrighi JM, Gebara OE, et al. Postmenopausal hormone replacement therapy increases plasmatic thromboxane beta 2. *Int J Cardiol* 2005; 99: 449-54.
21. Thijs A, van Baal WM, van der Mooren MJ, et al. Effects of hormone replacement therapy on blood platelets. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 613-8.
22. Teede HJ, McGrath BP, Turner A, et al. Effects of oral combined hormone replacement therapy on platelet aggregation in postmenopausal women. *Clin Sci (Lond)* 2001; 100: 207-13.
23. Ranganath LR, Christofides J, Semple MJ. Increased mean platelet volume after estrogen replacement therapy. *Ann Clin Biochem* 1996; 33 (Pt 6): 555-60.
24. Bar J, Lahav J, Hod M, et al. Regulation of platelet aggregation and adenosine triphosphate release in vitro by 17beta-estradiol and medroxyprogesterone acetate in postmenopausal women. *Thromb Haemost* 2000; 84: 695-700.
25. Nakano Y, Oshima T, Matsuura H, et al. Effect of 17beta-estradiol on inhibition of platelet aggregation in vitro is mediated by an increase in NO synthesis. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 961-7.
26. Nakano Y, Oshima T, Ozono R, et al. Estrogen replacement therapy suppresses function of thrombin stimulated platelets in inhibiting Ca(2+) influx and raising cyclic adenosine monophosphate. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 634-41.
27. Traquilli AL, Mazzanti L, Cugini AM, et al. Transdermal estradiol and medroxyprogesterone acetate in hormone replacement therapy are both antioxidants. *Gynecol Endocrinol* 1995; 9: 137-41.
28. García-Martínez MC, Labiós M, Hermenegildo C, et al. The effect of hormone replacement therapy on Ca2+ mobilization and P-selectin (CD62P) expression in platelets examined under flow cytometry. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 1-8.
29. Martina V, Bruno GA, Origlia C, et al. Transdermal oestradiol replacement therapy enhances platelet constitutive nitric oxide synthase activity in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002; 57: 371-5.