

Ocena hemostazy płytkowej oraz stanu śródbłonna u kobiet po menopauzie obciążonych czynnikami ryzyka choroby wieńcowej serca – wpływ terapii hormonalnej oraz profilaktyki przeciwzakrzepowej

Platelet hemostasis and endothelial status in postmenopausal women with some risk factors for coronary heart disease – the impact of hormonal therapy and anti-thrombotic prophylaxis

Grzegorz Stachowiak¹, Jolanta Niewiarowska², Magdalena Wiktorska², Izabela Papiewska-Pająk², Izabela Sacewicz², Tomasz Pertyński¹

¹Klinika Ginekologii i Chorób Menopauzy Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi;
kierownik Kliniki: prof. dr hab. med. Tomasz Pertyński

²Katedra i Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej Uniwersytetu Łódzkiego;
kierownik Katedry: prof. dr hab. Janusz Błasiak

Przeгляд Menopauzalny 2006; 2: 102–108

Streszczenie

Cel pracy: Wpływ terapii hormonalnej (HT) oraz profilaktyki przeciwzakrzepowej w postaci niskich dawek kwasu acetylosalicylowego (ASA) na hemostazę płytkową i stan śródbłonna kobiet menopauzalnych z czynnikami ryzyka choroby wieńcowej serca (CHD).

Materiał i metoda: Grupę badaną stanowiły kobiety menopauzalne (każda z nich obciążona 2 lub więcej czynnikami ryzyka CHD), u których zastosowano przezskórną HT (tHT) w postaci 17β-estradiolu i NETA (G1, n=22) lub ww. tHT w połączeniu z niskimi dawkami ASA (G2, n=23). Grupę kontrolną stanowiło 16 kobiet premenopauzalnych. We krwi kobiet oznaczano następujące parametry: GP IIb/IIIa, E-selektynę, endotelinę-1 (ET-1), u-PAR. Terapia trwała 3 mies.

Wyniki: 3-miesięczna terapia, zarówno w postaci tHT w G1, jak i tHT+ASA w G2 nie wpłynęła znacząco na poziomy badanych GP IIb/IIIa, E-selektyny, ET-1 i u-PAR. Obydwie grupy kobiet pomenopauzalnych *charakteryzowały*, w stosunku do grupy kontrolnej kobiet w okresie premenopauzy, wyższe poziomy płytkowego receptora fibrynogenu (GP IIb/IIIa) na początku badania (T₀).

Wnioski: 1. 3-miesięczna tHT zastosowana w grupie kobiet menopauzalnych obciążonych czynnikami ryzyka CHD nie miała wpływu na stan śródbłonna naczyniowego i hemostazę płytek krwi. 2. Stosowanie niskich dawek ASA, jako profilaktyki przeciwzakrzepowej dla tHT u kobiet po menopauzie z czynnikami ryzyka CHD, nie jest wskazane. 3. Po menopauzie dochodzi do niekorzystnych zmian w hemostazie płytkowej.

Słowa kluczowe: menopauza, endotelium, płytki krwi, terapia hormonalna, kwas acetylosalicylowy, choroba wieńcowa serca

Summary

Aim of study: the influence of transdermal hormone therapy (tHT) and anti-thrombotic prophylaxis (low doses of acetylsalicylic acid – ASA) on platelet hemostasis and endothelial function of menopausal women with risk factors for coronary heart disease (CHD).

Material and methods: Study group were menopausal women (with 2 or more CHD risk factors) in which tHT composed of 17β-estradiol and NETA (G1, n=22) or the above tHT combined with low ASA doses were administered (ASA) (n=23). Controls were 16 premenopausal women. The following parameters were measured in blood: GP IIb/IIIa, E-selectin, endothelin-1 (ET-1), u-PAR. Duration of the therapy was 3 months.

Adres do korespondencji:

dr n. med. **Grzegorz Stachowiak**, Klinika Ginekologii i Chorób Menopauzy Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki, ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź, tel. +48 042 271 15 07

Results: Three-month treatment, both as tHT in G1, as well as tHT+ASA in G2, had no significant influence on the levels of GP IIb/IIIa, E-selectin, ET-1 and u-PAR. At the beginning of the study (T_0), both groups of postmenopausal women were characterized, as compared to the premenopausal controls, by the higher levels of platelet receptor – GP IIb/IIIa.

Conclusions: 1. Three-month tHT applied in the group of menopausal women with CHD risk factors did not influence endothelial function and platelet hemostasis. 2. The use of low ASA doses, as the anti-thrombotic prophylaxis of tHT in postmenopausal women with CHD risk factors, is not indicated. 3. Disadvantageous alterations in platelet hemostasis are observed after menopause.

Key words: menopause, endothelium, platelets, hormone therapy, acetylsalicylic acid, coronary heart disease

Wstęp

W okresie menopauzy kobiety częściej zaczynają zapadać na schorzenia układu krążenia, w tym na chorobę wieńcową serca (ang. *coronary heart disease* – CHD). Główne przyczyny, to zmiany w profilu lipidowym, zwolnienie przepływu krwi, zmiany w krzepnięciu i fibrynolizie, uszkodzenie ściany naczyniowej w wyniku procesów flebo- i aterosklerozy [1, 2].

Śródbłonek naczyniowy (endotelium) oraz płytki krwi to bardzo ważne elementy hemostazy:

- ▶ uszkodzenie śródbłoneka, np. w wyniku miażdżycy, wzbudza kaskadę krzepnięcia, powodując kontakt osocza z czynnikiem tkankowym (ang. *tissue factor* – TF) oraz aktywację czynnika XII na ujemnie naładowanych powierzchniach (np. na kolagenie ściany naczynia wieńcowego odsoniętym w wyniku pęknięcia blaszki miażdżycowej);
- ▶ również płytki krwi, biorące udział zarówno w wytwarzaniu czopa hemostatycznego (adhezja płytek do ściany naczynia w miejscu jej uszkodzenia z następową ich aktywacją i agregacją), jak i w hemostazie wtórnej (w wyniku aktywacji na powierzchni płytek pojawiają się ujemnie naładowane fosfolipidy, stanowiące miejsce do aktywacji procesu krzepnięcia w mechanizmie wewnątrzpochodnym, a z ziarnistości płytek uwalniany jest V czynnik krzepnięcia), mogą być przyczyną powikłań zakrzepowo-zatorowych, w tym ostrych epizodów wieńcowych [3, 4].

Uszkodzenie ściany naczynia (w tym śródbłonek) i wytworzenie blaszki miażdżycowej jest morfologicznym podłożem CHD. Uszkodzić śródbłonek mogą: podwyższony poziom katecholamin, nikotyna, infekcje wirusowe, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, kompleksy immunologiczne. Istotne znaczenie dla rozwoju miażdżycy ma także zaburzony w metabolizm lipoprotein. Obecnie uważa się jednak, że główną rolę w procesie rozwoju miażdżycy tętnic odgrywa zapalenie. W uszkodzonych w wyniku procesu zapalnego komórkach śródbłonek zostaje uruchomiony szereg proaterogennych i prozakrzepowych przemian, niekorzystnie wpływających na hemostazę. Przemiany te to m.in. synteza i ekspresja TF, uwalnianie czynnika aktywującego płytki – PAF, tłumienie ekspresji trombomoduliny, uwalnianie PAI-1 oraz zahamowanie syntezy t-PA, ekspozycja integrin

i selektyn na powierzchni komórek endotelium, co ma znaczenie w powstawaniu mnogich mikrozakrzepów w naczyniach [5, 6].

Wpływ terapii hormonalnej (ang. *hormone therapy* – HT) na CHD nie jest do końca wyjaśniony. Z jednej strony wiele badań donosi, że estrogeny korzystnie wpływają na stan naczyń (np. zwiększając produkcję NO, powodując spadek VEGF, zmniejszając stężenie białek adhezyjnych), a stosowanie HT łączy się z redukcją ryzyka CHD – nawet o 40% [7]. Z drugiej strony, w takich badaniach, jak HERS, czy WHI doustna HT (ang. *oral HT* – oHT) nie sprawdziła się jako prewencja wtórna CHD, lub też zwiększyła ryzyko zawału serca w grupie kobiet po 60. roku życia (zwraca się uwagę na znoszenie benefikalnej roli estrogenów przez progestageny) [8, 9].

Czy kobiety w okresie menopauzy mogą jednak odnieść korzyści naczyniowe ze stosowania HT szczególnie, gdy mają już czynniki ryzyka rozwoju CHD, a ich naczynia wieńcowe nie są jeszcze zmienione miażdżycowo i czy terapia ta jest dla nich bezpieczna?

Celem obecnego badania była ocena wpływu, jaki HT i niskie dawki ASA wywierają na parametry określające stan śródbłonek naczyniowego i hemostazę płytkową w grupie kobiet menopauzalnych, obciążonych czynnikami ryzyka CHD.

Materiał i metoda

W badaniu wzięło udział 68 kobiet menopauzalnych, z czego do opracowania statystycznego zakwalifikowano ostatecznie 61 kobiet: 45 kobiet stanowiło grupę badaną, pozostałe zaś utworzyły grupę kontrolną. Grupa badana charakteryzowała się następującymi parametrami wyjściowymi: średni wiek – 55,29 lat; wiek menopauzalny – 65,26 mies.; BMI – 26,57 kg/m²; WHI – 0,82; cholesterol 229 mg/dl; trójglicerydy – 106 mg/dl; podwyższonymi poziomami PAI-1. Palenie papierosów i HA – 26 % pacjentek.

Kobiety biorące udział w badaniu miały 2 lub więcej z powyższych czynników ryzyka dla CHD, w tym palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, otyłość typu brzuszno-hipocholesterolemię, hipertrójglicerydemię.

U wszystkich kobiet przed rozpoczęciem leczenia (T_0) wykonano badanie ginekologiczne, połączone z ba-

daniem palpacyjnym sutków, mammografię, przezpochwową ultrasonografię narządów rodnych (ocena grubości endometrium, ocena przepływów naczyniowych w tętnicach macicznych – PI, RI, S/D), we krwi oznaczano glukozę na czczo, leukocytozę, poziom CRP, OB, stężenia AlAt, AspAt, bilirubiny.

Wskazaniami do zastosowania HT w grupie badanej były nasilone objawy zespołu klimakterycznego, (głównie) pod postacią silnych i częstych uderzeń gorąca i towarzyszących im zlewnych potów. Długość stosowania terapii – 3 mies.

Wśród badanej grupy kobiet wyróżniono:

G1 (n=22), gdzie zastosowano tHT w postaci plastrów, złożoną z 17 β -estradiolu (E₂) w dawce 50 μ g/dobę oraz octanu noretysteronu (NETA) w dawce 170 μ g/dobę oraz

G2 (n=23), gdzie poza ww. tHT (50 μ g E₂ + 170 μ g NETA) zastosowano niskie dawki kwasu acetylosalicylowego (ASA) – 30 mg/dobę. Terapię stosowano przez 3 mies.

Grupę kontrolną (K) (n=16) stanowiły miesiączkujące kobiety w okresie premenopauzy.

Charakterystykę badanych grup przedstawia tab. I.

W osoczu i krwi każdej z pacjentek oznaczano 2-krotnie, na początku badania (T₀) i po 3 mies. (T₃) następujące parametry, charakteryzujące stan śródbłonna i hemostazę płytkową: u-PAR, endotelina-1, E-selektyna, GP IIb/IIIa.

Przy pomocy metody immunoenzymatycznej (ELISA) oznaczano 3 pierwsze z ww. parametrów, stosując następujące zestawy odczynników: Human sE-selectin ELISA Kit (BIOSOURCE INTERNATIONAL), Endothelin-1 Biotrak ELISA System (Amersham Biosciences) i IMU-BIND® Total uPAR ELISA Kit (American Diagnostica inc). Krew do badań pobierano do probówek zawierających heparynę, następnie wirowano 2 000 x g przez 10 min w 4°C w celu uzyskania ludzkiego osocza. Osocze przechowywano w temp. -20°C. Poziom białek w każdej z prób badanych oznaczano w dwóch powtórzeniach. Przebieg oznaczeń prowadzono ściśle wg zaleceń i procedur producentów. W każdym teście płytki opłaszczono I przeciwciałami skierowanymi przeciwko badanym białkom inkubowano z próbkami nierozcieńczonego osocza i po odplukaniu nadmiaru białek dodawano II przeciwciała skoniugowane z peroksydazą chrzanu

Tab. I. Ogólna charakterystyka badanej populacji kobiet

	G1	G2	K	p1	p2	p3
wiek [lata]	54,44±5,58	56,24±4,75	47,39±4,00	0,240616	0,000201	0,000001
OM [mies.]	52,70±49,22	74,08±56,70	1,75±5,32	0,173777	0,000481	0,000036
BMI [kg/m ²]	26,63±4,27	26,60±3,49	25,45±3,54	0,983394	0,393151	0,341783
WHR	0,82±0,05	0,82±0,06	0,79±0,04	0,826430	0,124576	0,226982
glukoza [mg%]	88,81±15,73	81,91±9,04	83,21±10,39	0,160105	0,392690	0,690712
cholesterol [mg%]	228,26±32,48	231,90±21,74	217,42±28,95	0,721039	0,332837	0,130759
TG [mg%]	105±48,16	106,08±51,15	106±39,39	0,974985	0,971572	0,995688
CRP [mg/dl]	0,6±0	0,58±0,08	0,81±0,80	0,312243	0,194345	0,173908
leukocyty [10 ³ /ml]	5,503±1,622	5,468±1,351	6,106±1,278	0,818237	0,296979	0,167669
OB [mm po godz.]	12,45±10,68	10,18±4,51	13,14±6,72	0,482925	0,744185	0,144892
endometrium [mm]	3,79±0,73	3,67±0,70	6,26±2,04	0,599282	0,000006	0,000004
PI-śr. w tętnicach macicznych	1,87±0,62	1,85±0,53	2,07±0,56	0,772308	0,231858	0,117884
RI-śr. w tętnicach macicznych	0,76±0,08	0,75±0,07	0,78±0,05	0,662627	0,381420	0,169468
SD-śr. w tętnicach macicznych	5,14±2,05	4,54±1,67	5,33±2,40	0,233452	0,736794	0,171029
RR sys [mmHg]	131,95±17,70	137,60±16,70	126±17,34	0,266912	0,131199	0,015039
RR dias [mmHg]	80,79±10,52	83,69±8,86	82,12±9,04	0,313008	0,481031	0,092527
indeks Kuppermana	28,37±8,26	29,39±9,38	10,16±12,43	0,695221	0,000159	0,000271

p1 – pomiędzy G1 i G2; p2 – pomiędzy G1 i K; p3 – pomiędzy G2 i K

(HRP), która wraz z substratem dawała barwny produkt. Intensywność barwy odczytywano przy odpowiedniej długości fali w spektrofotometrze Wallac Victor (Perkin Elmer).

Natomiast przy użyciu cytometrii przepływowej oznaczano GP IIb/IIIa. Krew pobierano igłą (18G x 1 1/2") do plastikowej probówki zawierającej ACD (w końcowym stężeniu antykoagulant kwas cytrynowy/cytrynian sodu/glukoza: krew w stosunku 1:7 o/o) z żyły przedramieniowej. Do analizy ekspresji aktywnej formy ludzkiego receptora GPIIb-IIIa – po 10-krotnym rozcieńczeniu krwi roztworem PBS – dodawano przeciwciała: PAC-1 (znakowane FITC, *Becton Dickinson*). Ponadto do każdej próbki dodawano przeciwciała skierowane przeciwko ludzkiej podjednostce GPIIIa (znakowane PerCP, *Becton Dickinson*) w celu *bramkowania* płytek w pełnej krwi. Po 20 min utrwalano próbki 10-krotnie rozcieńczonym roztworem CellFix (*Becton Dickinson*) i inkubowano 2 godz. w ciemności w temperaturze pokojowej. Równolegle przeprowadzano kontrolę fluorescencji niespecyficznego wiązania znakowanych izotypowych immunoglobulin G₁ myszy. Fluorescencję 2 000–5 000 płytek mierzono przy użyciu FACSCalibur Instrument (*Becton Dickinson*) i analizowano w Lysis II software.

Metody statystyczne

- ▶ Dla parametrów wyrażonych w skali przedziałowej (ciągłych) podano minimum i maksimum, obliczono średnią, medianę, odchylenie standardowe, standardowy błąd średniej i współczynnik zmienności. Sprawdzono normalność rozkładów testem Shapiro-Wilka.
- ▶ Porównanie grup (próby niezależne)
Porównanie średnich między grupami w przypadku nieodrzućenia hipotezy o normalności rozkładu na poziomie istotności $p=0,05$ wykonano testem t-Studenta dla prób niezależnych, a w przypadku odrzućenia hipotezy o normalności rozkładów stosowano nieparametryczny test U Manna Whitney'a.
- ▶ Porównanie grup (próby zależne)
Porównanie średnich między grupami w przypadku nieodrzućenia hipotezy o normalności rozkładu na poziomie istotności $p=0,05$ wykonano testem t-Studenta dla prób zależnych, a w przypadku odrzućenia hipotezy o normalności rozkładów stosowano nieparametryczny test rangowanych znaków Wilcoxa.
- ▶ Dla parametrów wyrażonych w skali nominalnej zbadano strukturę i częstości występowania danych klas. Porównania między grupami, oraz badanie zależności przeprowadzono testem χ^2 (chi kwadrat). Jeśli warunki stosowania testu χ^2 nie były spełnione, to w przypadku tablicy czteropolowej porównanie dwóch częstości, jak i badanie zależności wykonano testem dokładnym Fishera.

Wyniki

3-miesięczna terapia, zarówno w postaci tHT w G1, jak i tHT+ASA w G2 nie miała wpływu na poziomy GP IIb/IIIa, E-selektyny, ET-1 i u-PAR kobiet po menopauzie. Spośród badanych parametrów, na początku badania (T₀) obydwie grupy kobiet pomenopauzalnych różniły się od grupy kontrolnej (K) poziomami GP IIb/IIIa – w G1 i G2 były one statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej (premenopauzalnej). Zjawiska tego nie obserwowano na końcu badania (T₃). Uzyskane wyniki przedstawione zostały w tab. II–IV.

Dyskusja

Białkowe składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (kolagen, fibronektyna, laminina, czynnik von Willebranda – vWF) odstonięte, np. w wyniku pęknięcia blaszki miażdżycowej są rozpoznawane przez swoiste receptory adhezyjne płytek krwi (np. kompleks glikoprotein błony płytkowej GPIIb-IX-V, czy receptor GPVI). Skutkiem tego płytki przylegają do miejsc o uszkodzonym śródbłonku, gdzie ulegają rozpostarciu. Następstwem adhezji płytek jest ich aktywacja, z uwalnianiem szeregu biologicznie aktywnych substancji w postaci, np. ADP, który aktywuje dalsze płytki. W końcowej fazie aktywacji na powierzchni płytek pojawiają się receptory, które wiążąc fibrynogen, powodują agregację płytek krwi. Receptorem takim jest glikoproteina IIb/IIIa, białko należące do rodziny adhezyjnych receptorów integrynowych. GP IIb/IIIa występuje tylko w płytkach krwi, gdzie po przejściu w stan aktywny podlega zmianom konformacyjnym i wiąże wysokocząsteczkowe białka (głównie fibrynogen). Dochodzi dzięki temu do agregacji płytek (fibrynogen *spina* płytki) i tworzenia zakrzepu w świetle naczynia, co z jednej strony hamuje krwawienie, z drugiej zaś może indukować rozwój zakrzepicy [10]. Zastosowana terapia nie wpłynęła na poziom GP IIb/IIIa, zaś wyższe poziomy GP IIb/IIIa w G1 i G2 mogą świadczyć o niekorzystnych, prozakrzepowych zmianach zachodzących w hemostazie pomenopauzalnej.

Endotelina-1 (ET-1), produkowana przez komórki śródbłonka, jest bardzo silnym wazokonstriktorem. Badania na modelach zwierzęcych sugerują, że wzrost ciśnienia tętniczego w okresie pomenopauzalnym może być po części zależny od ET-1 oraz jej receptora ET (A) R, przy czym estrogeny modulują ekspresję tego receptora [11, 12]. Krótkoterminowa, dowieńcowa podaż 17 β -E₂ u 20 kobiet po menopauzie z CHD zmniejszyła poziom ET-1 w naczyniach wieńcowych. Nie było wzrostu odpowiedzi naczyniowo-ruchowych na substancję P (SP) po podaniu E₂, co sugeruje, że wpływ estrogenów na wieńcowy wyrzut acetylocholino może być specyficznym, a nie uogólnionym oddziaływaniem na wieńcową reaktywność naczyń [13]. Obniżenie ET-1 pod wpływem HT nie jest stwierdzane przez wszystkich badaczy [14,

15]. Na przykład przeskórna HT (17β-E₂ 50 mcg/d + NETA 250 mcg/d) zastosowana u 30 kobiet menopauzalnych z objawami klimakterycznymi spowodowała w ciągu 6 miesięcy: w trakcie I fazy (sam E₂) wzrost ok. 20% produkcji prostacykliny F1alfa (mierzonej jej metabolit – 6-keto-pochodną), dodanie zaś NETA (w II fazie cyklu leczniczego) eliminowało powyższe działanie E₂. Brak było wpływu ww. HT na poziom ET-1 [16]. Wydaje się więc, że wpływ HT na poziomy ET-1 nie ma pierwszorzędowego znaczenia w protekcyjnym wpływie tej terapii na zaburzenia sercowo-naczyniowe kobiet menopauzalnych. Spadku ET-1 nie odnotowano również w obecnym badaniu.

Selektyny są rodziną białek, biorących zasadniczy udział w reakcji zapalnej organizmu. Występują one

na powierzchni leukocytów, aktywowanych płytkach krwi, na komórkach endotelium. E-selektyna jest białkiem adhezyjnym, którego ekspresja pojawia się na zmienionych zapalnie komórkach śródbłonna jako odpowiedź na działanie prozapalnych cytokin [17]. Np. przyłączenie czynnika płytkowego 4 (ang. *platelet factor 4*: PF4) – chemokiny o aterogennych właściwościach, wydzielanej przez aktywowane płytki krwi – do LRP (ang. *lipoprotein receptor-related protein*) indukuje w komórkach śródbłonna, poprzez aktywację jądrowego czynnika-κB (ang. *nuclear factor – κB*: NF-κB), syntezę mRNA E-selektyny, co daje efekt ostateczny w zwiększonej jej ekspresji na powierzchni śródbłonna [18]. Podstawową funkcją E-selektyny jest jej udział w przejściu leukocytów z etapu toczenia się do ścisłej adhezji

Tab. II. Wartości badanych parametrów przed (T₀) i po leczeniu (T₃)

	G1		G2		K	
	T ₀	T ₃	T ₀	T ₃	T ₀	T ₃
GP IIb/IIIa [śf*]	5,19 ± 6,99	2,72 ± 1,92	2,73 ± 2,96	3,29 ± 4,34	1,31 ± 0,84	1,97 ± 0,29
E-selektyna [ng/ml]	32,83 ± 16,1	29,42 ± 13,2	35,07 ± 13,8	31,65 ± 15,5	30,72 ± 12,9	27,32 ± 13,54
u-PAR [ng/ml]	0,24 ± 0,12	0,21 ± 0,07	0,33 ± 0,37	0,30 ± 0,32	0,45 ± 0,47	0,50 ± 0,51
ET-1 [fmol/ml]	8,98 ± 2,74	9,36 ± 2,16	7,19 ± 4,52	7,72 ± 4,52	9,16 ± 5,41	10,33 ± 4,33

*śf – średnia fluorescencji

Tab. III. Porównanie wartości parametrów pomiędzy T₀ i T₃ w obrębie danej grupy

	G1		G2		K	
	wartość testu z	p	wartość testu z	p	wartość testu z	P
GP IIb/IIIa	0,406	>0,05	0,492	>0,05	2,423	<0,05
E-selektyna	0,445	>0,05	0,855	>0,05	0,795	>0,05
u-PAR	0,805	>0,05	1,004	>0,05	0,033	>0,05
endotelina-1	0,505	>0,05	0,393	>0,05	0,665	>0,05

Tab. IV. Porównanie wartości parametrów pomiędzy badanymi grupami kobiet

	p1				p2				p3			
	T ₀		T ₃		T ₀		T ₃		T ₀		T ₃	
	test z	p	test z	p	test z	p	test z	p	test z	lii	test z	p
GP IIb/IIIa	0,842	>0,05	0,430	>0,05	3,083	<0,01	0,387	>0,05	2,524	<0,05	0,131	>0,05
E-selektyna	0,729	>0,05	0,194	>0,05	0,190	>0,05	0,433	>0,05	0,761	>0,05	1,139	>0,05
u-PAR	0,025	>0,05	0,900	>0,05	1,422	>0,05	1,609	>0,05	1,341	>0,05	1,512	>0,05
ET-1	0,802	>0,05	0,118	>0,05	0,917	>0,05	1,590	>0,05	1,349	>0,05	1,676	>0,05

p1 – pomiędzy G1 i G2; p2 – pomiędzy G1 i K; p3 – pomiędzy G2 i K

po aktywacji komórki [19]. W modelu zapalnym miażdżycy E-selektyna jest uważana za ważny czynnik tworzenia blaszki miażdżycowej, a jej ekspresja jest obecna na zmienionym miażdżycowo śródbłonku, w szczególności, gdy stwierdzana jest obecność podśródbłonkowych nacieków leukocytarnych [20]. Po 6 miesiącach tHT złożona z 17 β -estradiolu (50 mcg/dzień) i NETA (0,125 mg/dobę) spowodowała u kobiet pomenopauzalnych spadek poziomów E-selektyny, a także ACE, cholesterolu, LDL, HDL3, apolipoproteiny A i B oraz insuliny. Doszło również do spadku czynnika VII, PAI-1, wzrostu D-dimerów, spadku F1+2 (brak było zmian w stężeniu metaloproteinazy-2 i wielkości cząsteczki LDL) [21]. W naszym badaniu spadku stężenia E-selektyny nie zaobserwowano. Przyczyną mógł być zbyt krótki (3 mies.) okres leczenia hormonalnego.

Również poziomy receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (uPAR) nie uległy w obecnym badaniu zmianie pod wpływem 3 mies. tHT. uPAR wraz z LRP jest niezbędny do oczyszczania osocza z kompleksów uPA/PAI-1. W przypadku nieobecności kompleksów uPA/PAI-1, cząsteczki uPAR są rozmieszczone w błonie komórkowej w sposób przypadkowy, natomiast pojawienie się uPA/PAI-1 powoduje łączenie się uPAR i LRP w kompleksy oraz ich redystrybucję. Kompleksy uPAR-LRP ulegają następnie endocytozie i są składowane we wczesnych endosomach. Bezpośrednie łączenie się uPAR z LRP za pomocą domeny D3 jest niezbędne dla klirensu cząsteczek uPAR związanych z kompleksami uPA/PAI-1 [22]. uPAR jest także kluczową molekułą w regulowaniu pozakomórkowej proteolizy przez plazminogen, bierze również udział w procesach angiogenezy i inwazji nowotworów [23].

Terapia hormonalna okresu menopauzalnego w różnoraki sposób oddziałuje na hemostazę, a to wpływa z kolei na ryzyko CHD. Liczne badania dotyczące tego problemu donoszą zarówno o jej pozytywnym (np. spadek VCAM-1, ICAM-1, sTM, vWF, korzystne zmiany w fibrynolizie – spadek PAI-1, czy profilu lipidowym), jak i – odwrotnie – o niekorzystnym wpływie (np. wzrost białka C-reaktywnego, spadek AT III, spadek TFPI) na poszczególne elementy hemostazy, często też są wzajemnie ze sobą sprzeczne [24–26].

Wpływ tej terapii na hamowanie procesów miażdżycowych kobiet w okresie menopauzalnym, i pośrednio rozwój i przebieg CHD, jest – jak się wydaje – zależny przede wszystkim od: 1. wieku kobiety, w jakim rozpoczyna się leczenie (im wcześniej, tym lepiej), 2. długości leczenia hormonalnego (nie za krótko i nie za długo, niezbędne minimum), 3. typu HT (droga podania hormonów, ich dawka i skład biochemiczny) oraz 4. od obecności dodatkowych czynników ryzyka zakrzepowo-zatorowego, np. od rozwiniętej już miażdżycy tętnic.

W tym kontekście tHT wydaje się być dobrą, bezpieczną opcją w leczeniu wielu dolegliwości okresu klimakterium.

Wnioski

1. 3-miesięczna tHT zastosowana w grupie kobiet menopauzalnych obciążonych czynnikami ryzyka CHD nie miała wpływu na stan śródbłonka naczyniowego i hemostazę płytek krwi.
2. Stosowanie niskich dawek ASA, jako profilaktyki przeciwzakrzepowej dla tHT u kobiet po menopauzie nie jest wskazane.
3. Po menopauzie dochodzi do niekorzystnych zmian w hemostazie płytkowej.

Piśmiennictwo

1. Łopaciuk S. Zakrzepy i zatory. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002.
2. Stachowiak G, Połać I, Jędrzejczyk S, et al. Postmenopausal status, coagulation and fibrinolysis. *Pol J Gynaecol Invest* 2001; 3: 97-100.
3. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323 (1): 27-36.
4. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, et al. Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. Lippincott, Philadelphia 1987.
5. Levi M, ten Cate H, van der Poll T, et al. Pathogenesis of disseminated intravascular coagulation in sepsis. *JAMA* 1993; 270 (8): 975-9.
6. Ware JA, Heistad DD. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Platelet-endothelium interactions. *N Engl J Med* 1993; 328 (9): 628-35.
7. Lowe GD. Hormone replacement therapy: prothrombotic vs. protective effects. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002; 32 (5-6): 329-32.
8. 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.
9. Larkin M. Ups and downs for HRT and heart disease. *Lancet* 2000; 355: 1338.
10. Cierniewski CS. Leki przeciwplateletowe – blokery płytkowego receptora fibrynogenu. *Pol Przegl Kardiol* 2000; 2: 105-10.
11. Yanes LL, Romero DG, Cucchiarelli VE, et al. Role of endothelin in mediating postmenopausal hypertension in a rat model. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288 (1): R229-33.
12. Regitz-Zagrosek V. Cardiovascular disease in postmenopausal women. *Climacteric* 2003; 6 Suppl. 3: 13-20.
13. Webb CM, Ghatei MA, McNeill JG, et al. 17beta-estradiol decreases endothelin-1 levels in the coronary circulation of postmenopausal women with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102 (14): 1617-22.
14. Gambacciani M, Monteleone P, Vitale C, et al. Dydrogesterone does not reverse the effects of estradiol on endothelium-dependant vasodilation in postmenopausal women: a randomised clinical trial. *Maturitas* 2002; 43 (2): 117-23.
15. Cagnacci A, Tarquini R, Perfetto F, et al. Endothelin-1 and nitric oxide levels are related to cardiovascular risk factors but are not modified by estradiol replacement in healthy postmenopausal women. A cross-sectional and a randomized cross-over study. *Maturitas* 2003; 44 (2): 117-24.
16. Mikkola T, Viinikka L, Ylikorkala O. Administration of transdermal estrogen without progestin increases the capacity of plasma and serum to stimulate prostacyclin production in human vascular endothelial cells. *Fertil Steril* 2000; 73 (1): 72-4.
17. 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 (4895): 1160-5.
18. 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-kappaB-dependent manner. *Blood* 2005; 105 (9): 3545-51.
19. Ley K, Allietta M, Bullard DC, et al. Importance of E-selectin for firm leukocyte adhesion in vivo. *Circ Res* 1998; 83 (3): 287-94.

20. 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 (6): 1427-33.
21. 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.
22. Czekay RP, Kuemmel TA, Orlando RA, et al. Direct binding of occupied urokinase receptor (uPAR) to LDL receptor-related protein is required for endocytosis of uPAR and regulation of cell surface urokinase activity. *Mol Biol Cell* 2001; 12 (5): 1467-79.
23. Postovit LM, Adams MA, Lash GE, et al. Oxygen-mediated regulation of tumor cell invasiveness. Involvement of a nitric oxide signaling pathway. *J Biol Chem* 2002; 277 (38): 35730-7.
24. Falco C, Tormo G, Estelles A, et al. Fibrinolysis and lipoprotein (a) in women with coronary artery disease. Influence of hormone replacement therapy. *Haematologica* 2001; 86 (1): 92-8.
25. Seljeflot I, Arnesen H, Hofstad AE, et al. Reduced expression of endothelial cell markers after long-term transdermal hormone replacement therapy in women with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2000; 83 (6): 944-8.
26. Lowe GD, Upton MN, Rumley A, et al. Different effects of oral and transdermal hormone replacement therapies on factor IX, APC resistance, t-PA, PAI and C-reactive protein-a cross-sectional population survey. *Thromb Haemost* 2001; 86 (2): 550-6.

Powyższa praca powstała ze środków Komitetu Badań Naukowych – Grant KBN nr 3 PO5E 162 23.