

**Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego  
Wydział Lekarski I**

**Agnieszka Magdalena Mitkowska**

**OCENA SZTYWNOŚCI NACZYŃ TĘTNICZYCH ORAZ WYBRANYCH  
ZMIENNYCH HEMODYNAMICZNYCH W ZALEŻNOŚCI OD FAZY  
CYKLU MIESIĄCZKOWEGO U ZDROWYCH KOBIET W WIEKU  
ROZRODCZYM**

**Rozprawa doktorska**

**Promotor: dr hab. n. med. Robert Zygmunt Spaczyński, prof. UM**

**Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu**

**Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej**

**Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Leszek Pawelczyk**

**Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki N 407297640**

**Poznań 2013**

## SPIS TREŚCI

I.	WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY.....	3
II.	WSTĘP.....	6
III.	CEL PRACY.....	22
IV.	MATERIAŁ.....	23
V.	METODY.....	25
VI.	WYNIKI.....	33
VII.	DYSKUSJA.....	58
VIII.	WNIOSKI.....	71
IX.	STRESZCZENIE.....	72
X.	ABSTRACT.....	75
XI.	PIŚMIENNICTWO.....	78

## I. WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY

- AR – (*androgen receptors*) receptory androgenowe
- BMI – (*body mass index*) wskaźnik masy ciała
- cAI – (*central augmentation index*) centralny wskaźnik wzmocnienia
- cAP – (*central augmentation pressure*) centralne ciśnienie wzmocnienia
- cDBP – (*central diastolic blood pressure*) centralne ciśnienie rozkurczowe krwi
- CO – (*cardiac output*) pojemność minutowa serca
- cP1 – (*central first peak of pressure*) pierwszy szczyt ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej
- cP2 – (*central second peak of pressure*) drugi szczyt ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej
- cPP – (*central pulse pressure*) centralne ciśnienie tętna
- CRP – (*C-reactive protein*) białko C-reaktywne
- cSBP – (*central systolic blood pressure*) centralne ciśnienie skurczowe krwi
- cT1 – (*time at cP1*) czas pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej
- cT2 – (*time at cP2*) czas drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej
- DHEAS – (*dehydroepiandrosterone sulphate*) siarczan dehydroepiandrosteronu
- DVP – (*digital volume pulse*) objętość fali tętna
- E1 – (*estrone*) estron
- E2 – (*17-beta-estradiol*) 17-beta-estradiol
- E3 – (*estriol*) estriol
- ED – (*ejection duration*) czas wyrzutu krwi z lewej komory serca
- EFP – (*early follicular phase*) wczesna faza folikularna
- ER-alfa – (*estrogen receptors alpha*) receptory estrogenowe typu alfa
- ER-beta – (*estrogen receptors beta*) receptory estrogenowe typu beta
- ESP – (*end-systolic pressure*) ciśnienie końcowoskurczowe
- FGIR – (*fasting glucose/insulin ratio*) stosunek glukozy do insuliny na czczo
- FSH – (*follicle-stimulating hormone*) folikulotropina
- GLC – (*glucose*) glukoza
- HDL-Ch – (*high density lipoprotein – cholesterol*) frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o wysokiej gęstości
- HOMA – (*homeostasis model assessment*) homeostatyczny model oceny

INS – (*insulin*) insulina

ISI – (*insulin sensitivity index*) wskaźnik insulino-wrażliwości

LDL-Ch – (*low density lipoprotein – cholesterol*) frakcja cholesterolu związana z lipoproteina o niskiej gęstości

LFP – (*late follicular phase*) późna faza folikularna

LH – (*luteinizing hormone*) lutropina

LP – (*luteal phase*) faza lutealna

LUF – (*luteinized unruptured follicle syndrome*) zespół luteinizacji niepękniętego pęcherzyka jajnikowego

MBP – (*mean blood pressure*) średnie ciśnienie krwi

NADH – (*nicotinamide adenine dinucleotide*) dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy

NO – (*nitric oxide*) tlenek azotu

OGTT – (*oral glucose tolerance test*) doustny test obciążenia glukozą

pAI – (*peripheral augmentation index*) obwodowy wskaźnik wzmocnienia

PCOS – (*polycystic ovary syndrome*) zespół policystycznych jajników

pDBP – (*peripheral diastolic blood pressure*) obwodowe ciśnienie rozkurczowe krwi

pP1 – (*peripheral first peak of pressure*) pierwszy szczyt ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej

pP2 – (*peripheral second peak of pressure*) drugi szczyt ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej

PPA – (*pulse pressure amplification*) wzmocnienie ciśnienia tętna

pPP – (*peripheral pulse pressure*) obwodowe ciśnienie tętna

PPT – (*peak-to-peak time*) czas przejścia fali tętna

PR-A – (*progesterone receptors – A*) receptory progesteronowe typu A

PR-B – (*progesterone receptors – B*) receptory progesteronowe typu B

PRL – (*prolactin*) prolaktyna

PROG – (*progesterone*) progesteron

pSBP – (*peripheral systolic blood pressure*) obwodowe ciśnienie skurczowe krwi

pT1 – (*time at pP1*) czas pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej

pT2 – (*time at pP2*) czas drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej

QUICKI – (*quantitative insulin sensitivity check index*) ilościowy wskaźnik insulinowrażliwości

RAA – (*renin-angiotensin-aldosterone*) renina-angiotensyna-aldosteron

RI<sub>DVP</sub> – (*reflection index*) wskaźnik odbicia

SD – (*standard deviation*) odchylenie standardowe

SHBG – (*sex hormone binding globulin*) globulina wiążąca hormony płciowe

SI<sub>DVP</sub> – (*stiffness index*) wskaźnik sztywności

SV – (*stroke volume*) objętość wyrzutowa

TCh – (*total cholesterol*) cholesterol całkowity

TG – (*triglycerides*) trójglicerydy

Tr – (*time to reflection*) czas powrotu fali odbitej

TSH – (*thyrotropic hormone*) tyreotropina

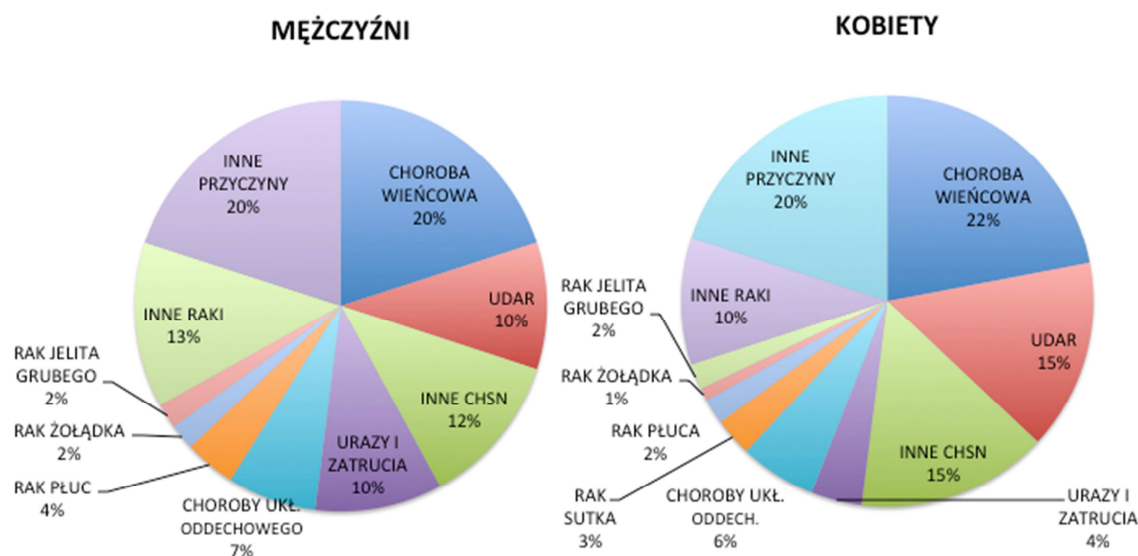
VEGF – (*vascular endothelial growth factor*) czynnik wzrostu śródbłonna naczyń

WHO – (*World Health Organization*) Światowa Organizacja Zdrowia

## II. WSTĘP

Choroby układu krążenia stanowią główną przyczynę zgonów na świecie zarówno u mężczyzn jak i u kobiet. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w 2008 roku z powodu chorób sercowo-naczyniowych zmarło 17,3 miliona ludzi, co stanowi 30% całkowitej liczby zgonów. Szacuje się, że do roku 2030 liczba ta wzrośnie do 25 mln rocznie, z czego główną część stanowią zgony w wyniku choroby wieńcowej i udaru mózgu. Te same źródła podają, że 7,5 mln (13%) zgonów rocznie może być związanych z obecnością nadciśnienia tętniczego (1).

W opracowaniu *European Cardiovascular Disease Statistics* wydanym w 2012 roku przez Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne (European Society of Cardiology) wraz z Europejskim Stowarzyszeniem Fundacji ds. Chorób Serca (European Heart Network) podano podobne dane dotyczące kontynentu europejskiego. Każdego roku w Europie notuje się 4 miliony zgonów z powodu chorób sercowo-naczyniowych, co stanowi 47% ich ogólnej liczby (52% u kobiet i 42% u mężczyzn) (Rycina 1). Choć w krajach europejskich w ostatnich latach notuje się stały trend związany ze zmniejszaniem się ogólnej śmiertelności w wyniku chorób układu krążenia, niepokojącym pozostaje fakt, że kraje Europy Środkowej i Wschodniej ciągle cechuje wyższy odsetek zgonów aniżeli w pozostałej części Europy. W Polsce w 2009 roku zanotowano ponad 83 tysiące zgonów u mężczyzn i ponad 94 tysiące zgonów u kobiet z przyczyn sercowo-naczyniowych (2).



Rycina 1. Przyczyny zgonów kobiet i mężczyzn w populacji europejskiej. 2012 *European Cardiovascular Disease Statistics*, European Heart Network and European Society of Cardiology, Wrzesień 2012

## ***Wpływ hormonów steroidowych na układ krążenia***

### ESTROGENY

Estrogeny są grupą hormonów steroidowych posiadającą 18 atomów węgla i pierścień aromatyczny A. Ich podstawowe działanie biologiczne polega na łączeniu się z jądrowymi receptorami estrogenowymi komórek docelowych i wpływ na ekspresję genów. Wyróżnia się 3 biologicznie czynne estrogeny produkowane w różnych tkankach organizmu: estron (E1, powstający głównie w tkankach obwodowych), estriol (E3, produkowany głównie w łożysku) oraz najbardziej aktywny, podstawowy u kobiet w wieku rozrodczym 17-beta estradiol (E2, syntetyzowany w 95% w komórkach ziarnistych jajnika). Stężenie estradiolu w surowicy zmienia się w zależności od fazy cyklu miesięczkowego. Średnio w czasie cyklu wytwarzane jest 20-40 µg/dobę, ale w okresie okołoolulacyjnym nawet 600-1000 µg/dobę. Na początku cyklu poziom estradiolu jest zbyt niski by aktywować receptory estrogenowe (3).

Działanie biologiczne estrogenów na układ rozrodczy jest bardzo szerokie, od zasadniczej roli w rozwoju II i III rzędowych cech płciowych, po kontrolę cyklu miesięczkowego i rozwój ciąży. Ich rola nie ogranicza się jednak tylko do układu płciowego. Receptory estrogenowe typu alfa (ER-alfa) i beta (ER-beta) znajdują się we wszystkich narządach organizmu, także w komórkach śródbłonna i komórkach mięśni gładkich naczyń, oraz komórkach układu immunologicznego zarówno u kobiet jak i u mężczyzn (4,5). W badaniach eksperymentalnych i klinicznych wykazano przede wszystkim protekcyjny efekt działania estrogenów na układ krążenia. Na uwagę zasługuje fakt zanotowania częstszego (choć nadal utrzymującego się na niskim poziomie) występowania ostrych epizodów wieńcowych u młodych kobiet we wczesnej fazie folikularnej cyklu miesięczkowego, czyli w warunkach występowania niskich stężeń E2 w surowicy krwi (6,7). Większość działań wywieranych przez estrogeny na naczynia krwionośne i układ immunologiczny zachodzi poprzez aktywację receptora alfa, który na drodze genomowej (receptory jądrowe) i pozagenomowej (receptory błonowe) moduluje funkcję układu krążenia (5,8,9). Estrogeny wykazują działanie wazodylatacyjne poprzez stymulację komórek śródbłonna i mięśni gładkich naczyń do produkcji i wydzielania substancji naczyniorozkurczowych, jak tlenek azotu (NO) i prostacyklina (5,10) oraz supresję wydzielania wazokonstryktorów jak endotelina-1 (11,12). Produkcja NO wzrasta w okresie przedowulacyjnym cyklu miesięczkowego, kiedy produkcja estrogenów jest

największa (13). Estrogeny działają bezpośrednio relaksacyjnie na komórki mięśni gładkich naczyń wieńcowych poprzez modulację aktywności kanałów wapniowych miocytów poprzez zmniejszenie poziomu jonów wapnia i wazodylatację (5,14). Badania na zwierzętach potwierdziły, że estrogeny powodują wzrost pojemności minutowej serca i frakcji wyrzutowej lewej komory (15). Ponadto estrogeny zmniejszają ekspresję i wiązanie receptora dla angiotensyny II wykazując działanie zapobiegawcze w rozwoju nadciśnienia tętniczego zarówno na poziomie obwodowym dotyczącym skurczu naczyń jak i na poziomie ośrodkowego układu nerwowego (16). Inne badania naukowe wykazały rolę estrogenów jako modulatorów procesu zapalnego. Endogenne estrogeny wywierają efekt przeciwzapalny poprzez wspomnianą już stymulację syntezy NO, regulację rekrutacji leukocytów, wymiatanie wolnych rodników, hamowanie oksydacji lipoprotein osocza oraz hamowanie ekspresji niektórych cytokin prozapalnych (17,18). Efekt przeciwzapalny endogennych estrogenów został potwierdzony w niektórych badaniach klinicznych u młodych kobiet w wieku reprodukcyjnym. Zanotowano negatywną korelację pomiędzy poziomem estrogenów a stężeniem białka ostrej fazy CRP (białko C-reaktywne) w czasie cyklu miesięczkowego (18,19). Nie potwierdzono natomiast przeciwzapalnego działania egzogennych estrogenów stosowanych u kobiet w wieku pomenopauzalnym. Stosowanie hormonalnej terapii zastępczej powodowało wzrost poziomu CRP i innych markerów zapalenia w surowicy krwi w tej grupie kobiet (20,21). Także duże badania randomizowane nie potwierdziły korzystnego wpływu egzogennych estrogenów w prewencji chorób układu krążenia u kobiet po menopauzie (22-24). Wobec takich wyników stanowiska wszystkich światowych towarzystw naukowych są ze sobą zgodne co do niezalecania terapii estrogenowej w celu prewencji chorób układu krążenia u kobiet po menopauzie.

## PROGESTERON

Progesteron jest związkiem steroidowym zbudowanym z 21 atomów węgla, zaliczanym do grupy gestagenów. Działanie biologiczne progesteronu odbywa się na zasadzie pobudzenia jego jądrowych i cytoplazmatycznych receptorów (PR) występujących w kilku izoformach, w tym dwóch podstawowych: A i B. PR-A i PR-B wykazują odmienne, niekiedy antagonistyczne działanie biologiczne, co umożliwia progesteronowi promowanie różnych odpowiedzi tkankowych. Gestageny wykazują także niskie powinowactwo do receptorów mineralokortykoidowych i androgenowych. Stężenie progesteronu w fazie folikularnej cyklu miesięczkowego jest śladowe



(wydzielanie dobowe przez korę nadnerczy, około 0,75-2,5 mg/dobę). Pewien wzrost stężenia hormonu notuje się około 16-40 godzin przed szczytem LH, a następnie 12-24 godziny przed owulacją (podczas piku lutropiny) ale najbardziej intensywne wydzielanie przez złuteinizowane komórki ziarniste i tekalne ciała żółtego zachodzi po jajczkowaniu, osiągając wartości szczytowe w połowie fazy lutealnej. W tym okresie dzienna produkcja progesteronu wynosi około 50 mg/dobę. Znacznie większe stężenia progesteronu występują w czasie ciąży, dzienna produkcja hormonu przez łożysko w III trymestrze ciąży wynosi 250 mg/dobę. Biologiczne działanie progesteronu jest wielokierunkowe. Oprócz zasadniczego wpływu na układ rozrodczy, m.in. przemianę wydzielniczą i doczesną endometrium, udział w zagnieżdżeniu zarodka w jamie macicy i podtrzymaniu ciąży, progesteron wywiera także wpływ ogólnoustrojowy. Progesteron reguluje m.in. metabolizm białek i węglowodanów, wpływa na układ moczowy i oddechowy, metabolizm kostny a także funkcje poznawcze i nastrój. Udowodniono także jego działanie immunosupresyjne (3). Wpływ progesteronu na układ krążenia nie został dotąd w pełni poznany. Wydaje się, iż endogenne progesteron wykazuje efekt protekcyjny, synergistyczny z działaniem estrogenów, poprzez obniżenie ciśnienia krwi, hamowanie nadaktywności naczyń wieńcowych oraz silne działanie wazodylatacyjne i natriuretyczne (25). W badaniach prowadzonych na zwierzętach oraz na ludzkich komórkach śródbłonna naczyniowego *in vitro* wykazano pozagenomowe działanie progesteronu na wzrost aktywności syntazy tlenku azotu w komórkach śródbłonna naczyń, związanej ze wzrostem stężenia NO i efektem wazodylatacyjnym (26,27). W innych badaniach progesteron powodował również zmniejszenie ilości jonów wapnia w komórkach mięśni gładkich naczyń u ludzi i zwierząt (28,29). Przeciwnie działanie gestagenów na układ krążenia wykazały duże randomizowane badania u kobiet po menopauzie. Stosowany w nich syntetyczny progestagen octan medroksyprogesteronu powodował wzrost ryzyka chorób układu krążenia w tej grupie kobiet (22,23). Bardzo prawdopodobne jest, iż naturalny progesteron oraz jego syntetyczna pochodna octan medroksyprogesteronu wykazują różny profil działania na układ krążenia (27,30). Wpływ endogenne progesteronu na fizjologiczną zmienność hemodynamiczną w trakcie naturalnego cyklu miesięczkowego pozostaje nadal słabo poznany i niejednoznaczny.

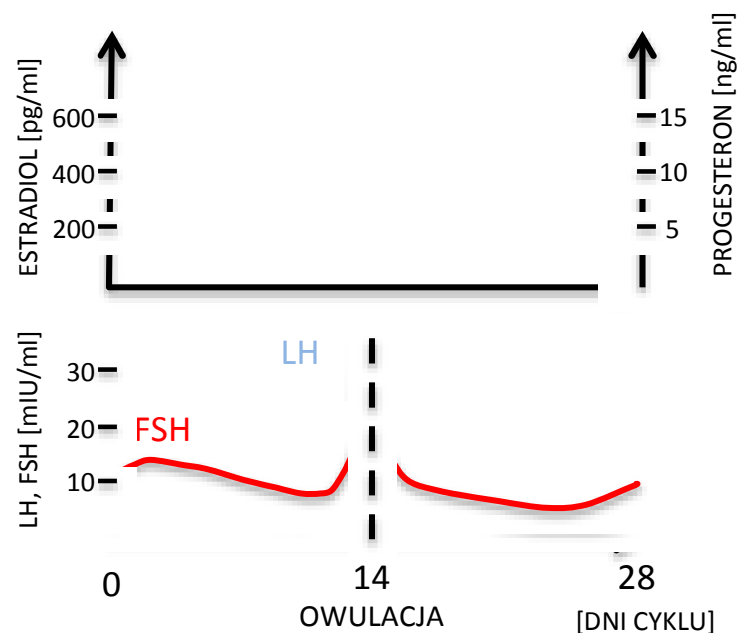
## ANDROGENY

Androgeny należą do związków steroidowych zbudowanych z 19 atomów węgla. Silnymi biologicznie androgenami są: testosteron (powstający w 60% w wyniku obwodowej konwersji z androstendionu oraz w równych ilościach produkowany przez nadnercza i jajniki) oraz najsilniejsza jego pochodna, dihydrotestosteron (powstający z testosteronu przy udziale 5-alfa-reduktazy). Pozostałe androgeny: androstendion, dehydroepiandrosteron i siarczan dehydroepiandrosteronu wykazują słabsze działanie biologiczne. Stężenie testosteronu nie wykazuje znaczącej zmienności w trakcie cyklu miesięczkowego i choć jego stężenie spada stopniowo wraz z wiekiem, nie wykazano nagłego spadku jego poziomu w surowicy krwi po menopauzie jak w przypadku żeńskich hormonów płciowych. Androgeny biologicznie stanowią prekursory w syntezie żeńskich hormonów płciowych, wykazują też działanie na inne tkanki ustroju poprzez receptory androgenowe (AR) (3,31). Obecność receptorów dla testosteronu wykazano w komórkach mięśnia sercowego, śródbłonna i mięśni gładkich naczyń (32,33). W badaniach eksperymentalnych udowodniono, iż testosteron może wykazywać pozytywny efekt na układ krążenia poprzez działanie wazodylatacyjne, także na tętnice wieńcowe (34,35). W badaniu przeprowadzonym w populacji mężczyzn z potwierdzoną przewlekłą niewydolnością serca stwierdzono częste występowanie niskich stężeń androgenów, a niedobór tych hormonów występował jako czynnik prognostycznie niekorzystny i wiązał się z podwyższoną śmiertelnością w tej grupie pacjentów (36). Przeciwnie wnioski, promujące tezę o negatywnym działaniu androgenów, wynikają z faktu stwierdzenia zwiększonego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w zespołach hiperandrogenizacji u kobiet, jak zespół policystycznych jajników (PCOS) (33,37). Dotąd brak wystarczających danych dla określenia jednoznacznego efektu działania tych hormonów na układ krążenia.

### ***Fizjologia cyklu miesięczkowego***

Fizjologia cyklu miesięczkowego i mechanizmy wpływające na regulację zmian hormonalnych w trakcie jego trwania zostały bardzo dobrze poznane. Cykl miesięczkowy dzieli się klasycznie na dwie fazy: fazę folikularną (z uwzględnieniem okresu okołooowulacyjnego) trwającą od pierwszego dnia miesiączki do owulacji oraz fazę lutealną rozpoczynającą się po owulacji i trwającą do kolejnego krwawienia miesięczkowego. Początek fazy folikularnej charakteryzuje niski poziom estrogenów

w surowicy krwi, co na zasadzie negatywnego sprzężenia zwrotnego stanowi bodziec do wydzielania folikulotropiny (FSH) przez przysadkę mózgową. Wzrastające stężenie FSH prowadzi do wzrostu pewnej puli pęcherzyków jajnikowych i późniejszej selekcji pęcherzyka dominującego. Wzrastające pęcherzyki są miejscem wzmożonej produkcji estrogenów (przede wszystkim estradiolu, E2), których stężenie zaczyna systematycznie wzrastać, osiągając poziom, który ponownie na zasadzie negatywnego sprzężenia zwrotnego prowadzi do spadku wydzielania FSH przez przysadkę. Obniżenie stężenia folikulotropiny powoduje zahamowanie dalszego rozwoju pęcherzyków z wyjątkiem pęcherzyka dominującego, w którym w czasie dalszego dojrzewania dochodzi do dalszej intensywnej produkcji estradiolu. Po uzyskaniu maksymalnych wartości progowych E2 (200-600 pg/ml), w mechanizmie pozytywnego sprzężenia zwrotnego dochodzi do wyrzutu gonadotropin przez przysadkę, zwłaszcza lutropiny (LH), której pik jest czynnikiem spustowym inicjującym owulację. Pod wpływem wyrzutu LH następuje także luteinizacja komórek ziarnistych i tekalnych pękniętego pęcherzyka, powstanie ciała żółtego i produkcja przez nie hormonów steroidowych – progesteronu i estradiolu. Jeśli nie dojdzie do zapłodnienia ciało żółte zaczyna degenerować, dochodzi do spadku stężeń progesteronu i estradiolu w surowicy krwi i pojawia się kolejna miesiączka. Cykliczne zmiany stężeń podstawowych hormonów steroidowych w trakcie prawidłowego cyklu miesięczkowego przedstawiono na Rycinie 2.



Rycina 2. Zmiany podstawowych hormonów płciowych w czasie cyklu miesięczkowego.

Długość cyklu miesięczkowego zależy przede wszystkim od czasu wzrostu i dojrzewania pęcherzyka dominującego w czasie fazy folikularnej, która może trwać od 10 do 20 dni. Długość fazy lutealnej cyklu miesięczkowego jest zasadniczo stała i trwa 14 dni (13-15 dni). W miarę dojrzewania płciowego cykle miesięczkowe stają się bardziej regularne, u kobiet w wieku 25-35 lat ponad połowa cykli mieści się w przedziale 26-28 dni. Należy jednak zauważyć, że idealne 28-dniowe cykle miesięczkowe występują tylko u niewielkiego odsetka (10-15%) kobiet w wieku rozrodczym.

### ***Fizjologia układu krążenia – podstawowe pojęcia***

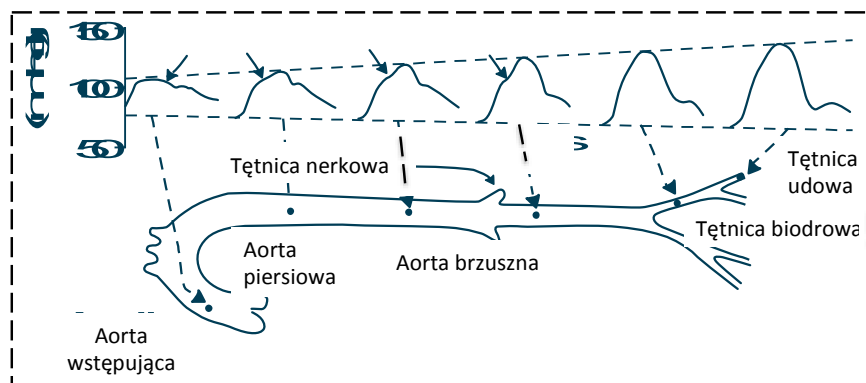
W dużym uproszczeniu układ krążenia składa się z serca pełniącego rolę pompy powodującej przemieszczanie krwi do łożyska naczyniowego oraz naczyń tętniczych i żylnych. Pełen cykl pracy serca składa się z następujących po sobie dwóch faz: skurczu i rozkurczu. Na początku fazy skurczowej, w wyniku zmiany gradientu ciśnień pomiędzy przedsionkami i komorami dochodzi do zamknięcia zastawek przedsionkowo-komorowych, co zapobiega cofaniu się zalegającej w komorach krwi do przedsionków. W pierwszym etapie mięśniówka komór wykonuje skurcz izowolumetryczny prowadzący do wzrostu ciśnienia w komorach, które po uzyskaniu wartości krytycznych, przekraczających ciśnienie w wielkich pniach tętniczych prowadzi do otwarcia zastawek półksiężycowatych. Krew z komór zostaje wypompowana do aorty i pnia płucnego, ciśnienie w komorach ulega obniżeniu, dochodzi do rozkurczu włókien mięśniowych (faza rozkurczowa). Kiedy ciśnienie w komorach obniży się do wartości niższych niż ciśnienie w przedsionkach otwierają się zastawki przedsionkowo-komorowe i krew z przedsionków napływa ponownie do komór, aż do odwrócenia gradientu ciśnień (38).

Wydajność pracy serca opisywana jest między innymi przez pojemność minutową (cardiac output, CO), czyli objętość krwi, jaką lewa komora pompuje na obwód w przeciągu 1 minuty. Parametr ten zależny jest od częstotliwości rytmu serca (heart rate, HR) i objętości wyrzutowej (stroke volume, SV), czyli objętości krwi wyrzuconej z komory do naczynia tętniczego w trakcie pojedynczego skurczu, co z kolei uzależnione jest od kurczliwości serca i jego obciążenia. Obciążenie serca to ciśnienie z jakim krew znajdująca się w komorze oddziałuje na jej ściany. Oceniane jest zazwyczaj tuż przed rozpoczęciem skurczu (obciążenie wstępne,

preload) oraz na końcu skurczu izowolumetrycznego, w momencie otwarcia zastawek półksiężycowatych (obciążenie następcze, afterload) (38).

### **Pojęcie fali tętna**

Fala tętna powstaje w wyniku rozciągnięcia ściany aorty w momencie wyrzutu krwi na obwód z lewej komory serca. Powstałe odkształcenie przemieszcza się wzdłuż łożyska naczyniowego ku obwodowi z charakterystycznym kształtem zależności odkształcenie-ciśnienie/czas, który można rejestrować (wykres fali tętna). W miarę oddalania się w kierunku obwodowym wykres fali tętna zmienia swój kształt, zwiększa się amplituda fali, a szczyt skurczowy staje się ostrzejszy, tym samym dochodzi do stopniowego zwiększenia amplitudy ciśnienia tętna (39) (Rycina 3).

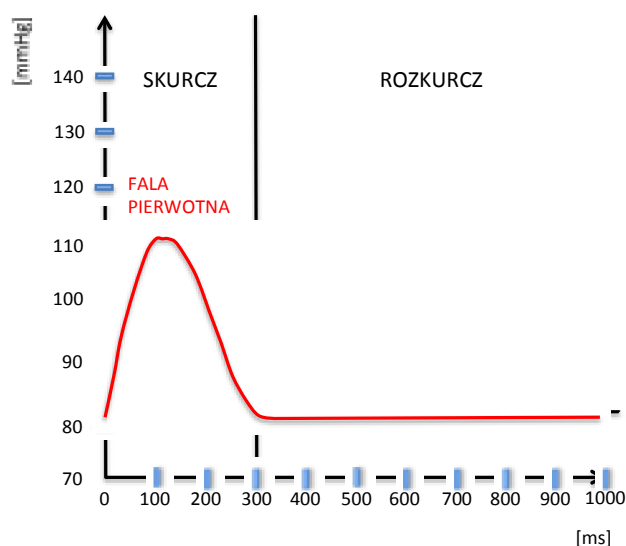


Rycina 3. Zmiana kształtu fali tętna podczas przebiegu wzdłuż aorty i tętnic obwodowych zarejestrowana u 24 letniej osoby. SphygmoCor Clinical Guide, [www.atcormedical.com](http://www.atcormedical.com)

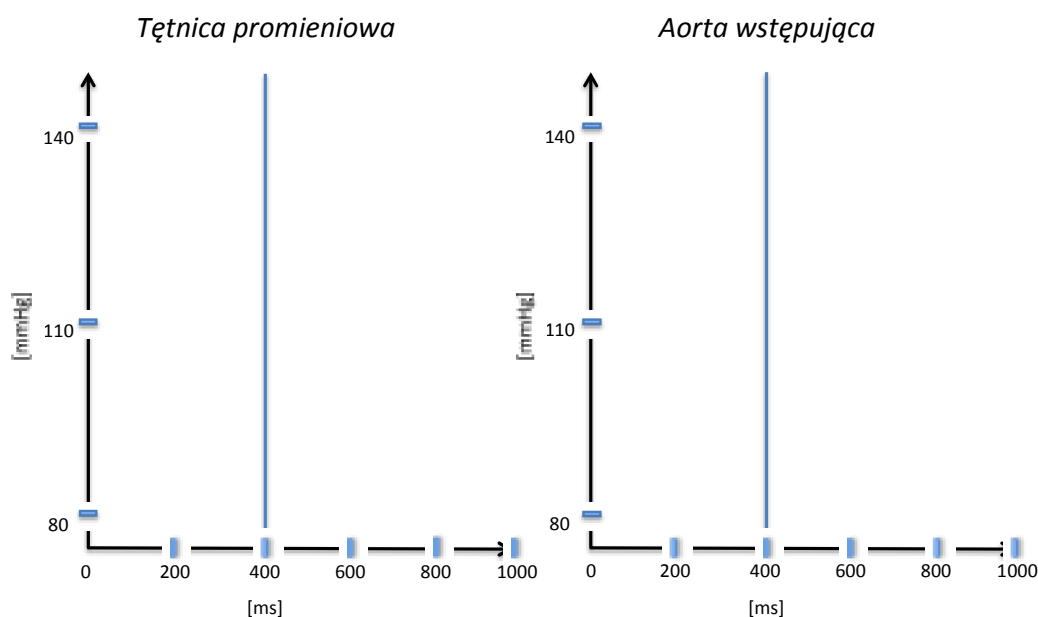
Ciśnienie tętna (pulse pressure, PP) to różnica pomiędzy wartościami ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, jest parametrem bardzo istotnym dla oceny ryzyka choroby wieńcowej (40). Zjawisko zwiększenia amplitudy ciśnienia tętna w kierunku obwodowym łożyska naczyniowego związane jest ze sztywnością naczyń tętniczych, odbiciem fali oraz odległością od miejsca odbicia i nazywane jest wzmocnieniem ciśnienia tętna (pulse pressure amplification, PPA). Wartość PPA przedstawiana jest jako stosunek PP w tętnicy promieniowej do PP w aorticie wstępującej i zależy także od wieku, pozycji ciała i wysiłku fizycznego (41). Fala tętna przemieszcza się z prędkością znacznie wyższą aniżeli przepływ krwi w naczyniach, wynoszącą około 6-

14 m/s (przepływ krwi w aorcie to około 1 m/s) (39). W miejscach podziałów tętnic fala tętna ulega odbiciu i powraca w kierunku aorty. W warunkach fizjologicznych fala odbita powraca do aorty wstępującej w fazie rozkurczu prowadząc do podwyższenia ciśnienia rozkurczowego, z zachowaniem prawidłowego przepływu krwi w naczyniach wsierdza i obniżenia centralnego ciśnienia tętna (Rycina 4). W przypadku zwiększenia sztywności naczyń tętniczych, do którego dochodzi w przebiegu różnych stanów patologicznych, prędkość fali tętna znacznie się zwiększa. W takich przypadkach fala odbita powraca do serca znacznie wcześniej, tj. jeszcze w fazie skurczowej. Opisane zjawisko powoduje istotną zmianę w wykresie fali tętna i jest bardziej widoczne w przedziale centralnym (aorta) niż obwodowym (39,42,43). Wykres fal tętna centralnego i obwodowego w warunkach fizjologicznych i w przypadku zwiększonej sztywności naczyniowej przedstawia Rycina 5.

W konsekwencji przyspieszonego powrotu fali odbitej dochodzi do wzmocnienia ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna w aorcie wstępującej, prowadząc często do wystąpienia izolowanego nadciśnienia skurczowego (39). Zjawiska te prowadzą do zwiększenia obciążenia następczego lewej komory, co może prowadzić do jej przerostu i w dalszej konsekwencji niewydolności i zaburzeń perfuzji.



Rycina 4. Zjawisko odbicia fali tętna (aorta). Linia czerwona – fala pierwotna, linia niebieska – fala odbita, linia czarna przerywana – ostateczny kształt fali tętna.



Rycina 5. Wpływ zwiększonej sztywności naczyniowej na kształt fali tętna w tętnicach obwodowych i centralnych. Linia przerywana – kształt fali tętna w warunkach fizjologicznych, czerwona linia ciągła – kształt fali tętna w przypadku zwiększonej sztywności naczyń.

### **Zjawisko sztywności naczyń**

Zwiększenie sztywności naczyniowej jest głównym czynnikiem wpływającym na morfologię fali tętna. Proces ten następuje fizjologicznie w związku ze starzeniem się organizmu, a także w wyniku licznych procesów patologicznych. W ich konsekwencji dochodzi do pogrubienia ściany naczyń, która staje się bardziej sztywna. Główne zmiany zachodzą w warstwach wewnętrznej i środkowej ściany (*intima-media*), gdzie dochodzi do degeneracji uporządkowanej struktury włókien sprężystych z jednoczesnym wzrostem ilości włókien kolagenu, substancji podstawowej i złogów wapnia. Utrata elastyczności jest częściowo kompensowana poprzez poszerzenie światła tętnicy (44,45). Zjawisko sztywnienia tętnic występuje przede wszystkim w dużych centralnych tętnicach sprężystych jak aorta, tętnica biodrowa wspólna czy tętnica szyjna wspólna. Mniejsze tętnice mięśniowe wykazują niewielkie zmiany strukturalne. Procesy utraty elastyczności tętnic rozpoczynają się fizjologicznie już na początku trzeciej dekady życia (42,46).

Do najważniejszych stanów chorobowych powodujących zwiększenie sztywności naczyniowej należą: miażdżycy tętnic, nadciśnienie tętnicze i cukrzyca (47). Z kolei zwiększona sztywność naczyniowa stanowi istotny czynnik predykcyjny powikłań u

chorych na choroby układu krążenia (choroba wieńcowa, udar, nadciśnienie tętnicze), w zaawansowanej niewydolności nerek i cukrzycy (44). Obecnie prowadzone są badania dotyczące wpływu czynników genetycznych na sztywność naczyń. Podejrzewa się, iż mogą one wywoływać bezpośredni wpływ na budowę ściany naczyń lub działać pośrednio poprzez modyfikację czynników ryzyka. Dotychczas prowadzono badania nad genami włączonymi w regulację układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz związanymi z dziedziczeniem chorób jednogenowych powiązanych z patologią w budowie ściany naczyniowej, jak zespół Marfana, zespół Ehlersa-Danlosa i zespół Williamsa (39,44).

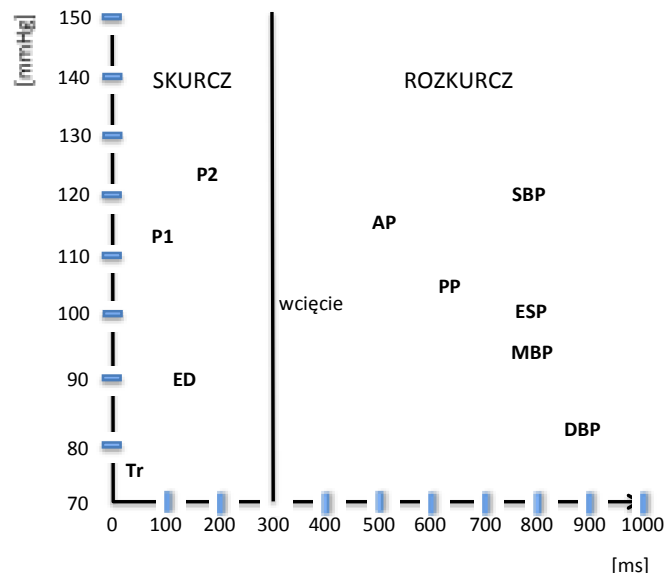
### ***Metody pomiaru sztywności naczyniowej***

Metody oceny sztywności naczyń można podzielić na inwazyjne (bezpośrednia ocena ciśnienia aortalnego) i szeroko stosowane obecnie metody nieinwazyjne (39). W dużych badaniach eksperymentalnych potwierdzono bardzo znaczną korelację pomiędzy wynikami badań inwazyjnych i nieinwazyjnych (48,49).

W praktyce klinicznej pojęcie sztywności naczyniowej opisywane jest poprzez szereg różnych parametrów. Szeroko stosowany jest pomiar prędkości fali tętna (pulse wave velocity, PWV) polegający na ilościowej ocenie czasu przemieszczania się fali tętna wzdłuż aorty. Na podstawie analizy fali tętna (pulse wave analysis – PWA) dokonuje się oceny takich wskaźników jak wskaźnik wzmocnienia (augmentation index, AI) i ciśnienie wzmocnienia (augmentation pressure, AP). Ciśnienie wzmocnienia to różnica wartości ciśnień pomiędzy pierwszym a drugim szczytem ciśnienia (P1 – maksymalne ciśnienie wytwarzanej przez serce fali pierwotnej i P2 – maksymalne ciśnienie po interferencji fali odbitej) podczas fazy skurczowej analizowanej fali tętna. Jest ono ściśle związane z szybkością fali odbitej. Wskaźnik wzmocnienia stanowi stosunek ciśnienia wzmocnienia do amplitudy ciśnienia tętna i przedstawia w sposób pośredni miarę sztywności naczyniowej. Innymi podstawowymi parametrami opisującymi sztywność naczyniową i falę tętna w tętnicach obwodowych i centralnych są: ciśnienie skurczowe (systolic blood pressure, SBP), rozkurczowe (diastolic blood pressure, DBP) i ciśnienie tętna (pulse pressure, PP) oraz ciśnienie średnie (mean blood pressure, MBP). Z wykresu fali tętna odczytać można również wartości parametrów punktów czasowych związanych z poszczególnymi zjawiskami hemodynamicznymi, jak: czasy T1 i T2 odpowiednio



pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego, czas wyrzutu krwi z lewej komory (ejection duration, ED) opisujący czas od początku przepływu krwi przez zastawkę aortalną do czasu zamknięcia zastawki, który obrazowany jest na wykresie fali tętna jako charakterystyczne wcięcie (*incisura*) oraz czas powrotu fali odbitej (time to reflection, Tr) definiowany jako całkowity czas potrzebny do przejścia fali tętna na obwód i powrotu do aorty fali odbitej. Wymienione zmienne opisujące sztywność naczyń i falę tętna uważane są za niezależne czynniki ryzyka naczyniowo-sercowego (47,50). Graficzne przedstawienie parametrów opisujących sztywność naczyńową pokazano na Rycinie 6.

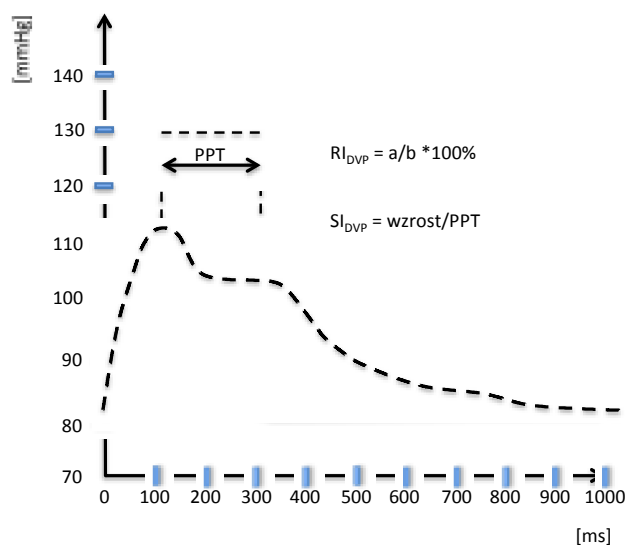


Rycina 6. Wykres fali tętna. SBP – ciśnienie skurczowe (systolic blood pressure), DBP – ciśnienie rozkurczowe (diastolic blood pressure), MBP – ciśnienie średnie (mean blood pressure), ESP – ciśnienie końcowoskurczowe (end-systolic pressure), PP – ciśnienie tętna (pulse pressure), AP – ciśnienie wzmacnienia (augmentation pressure), P1 – pierwszy szczyt ciśnienia skurczowego (first peak of pressure), P2 – drugi szczyt ciśnienia skurczowego (second peak of pressure), ED – czas wyrzutu (ejection duration), Tr – czas powrotu fali odbitej (time to reflection)

Najpopularniejszymi metodami stosowanymi obecnie do rejestracji fali tętna są: tonometria aplanacyjna i metoda oscylometryczna. Tonometria aplanacyjna z zastosowaniem wysoce czułego aparatu nadgarstkowego uważana jest za złoty standard zapisu fali tętna, zasada jej działania opisana jest w dalszej części pracy. Metoda oscylometryczna polega na ocenie fali tętna rozchodzącego się w tętnicy

poprzez rejestrowanie zmian i oznaczanie amplitudy ciśnienia tętniczego w trakcie napełniania i opróżniania mankietu sfigmomanometru (50). Mankiety umieszczone są nad tętnicami ramiennymi oraz tętnicami piszczelowymi, pomiary prowadzone są jednocześnie z rejestracją czterołożynowego EKG, umożliwiającą pomiar różnicy czasu w dotarciu fali tętna do poszczególnych kończyn w odpowiednim cyklu pracy serca. Odległości pomiędzy punktami w których dokonuje się pomiarów oceniane są za pomocą taśmy z podziałką milimetrową. Informacje otrzymane z mankiatów ciśnieniowych oraz EKG ulegają przetworzeniu przez specjalistyczne dedykowane temu urządzenia (PeriScope, Vasotens, itp.) a parametry opisujące sztywność naczyniową zostają obliczone za pomocą odpowiednich algorytmów (51,52).

Do oceny sztywności naczyń tętniczych stosuje się również analizę objętości fali tętna na poziomie palca (digital volume pulse, DVP) przy użyciu metody fotopletyzmograficznej. Umieszczony na palcu czujnik dokonuje pomiarów transmitowanego przez tkanki palca światła podczerwonego oceniając jednocześnie stopień jego absorpcji przez hem zawarty w hemoglobinie krwi przepływającej przez opuszkę. Ilość absorbowanego światła jest wprost proporcjonalna do objętości przepływającej krwi, która zwiększa się w czasie skurczu serca. Rejestracja pomiarów w sposób ciągły (beat-to-beat) pozwala na rekonstrukcję krzywej fali tętna na poziomie opuszki palca. Kształt fali zależy od szybkości fali tętna (PWV), odległości od aorty wstępującej do miejsca pomiaru (tętnica paliczkowa) oraz napięcia małych tętnic mięśniowych, które wpływa na stopień odbicia fali. Na podstawie wykresu fali tętna oblicza się wskaźniki sztywności (stiffness index,  $SI_{DVP}$ ) i odbicia (reflexion index,  $RI_{DVP}$ ).  $SI_{DVP}$  jest parametrem opisującym sztywność dużych naczyń na podstawie czasu mijającego od pojawienia się szczytu fali rozchodzącej się na obwód do szczytu fali odbitej (peak-to-peak Time, PPT), który koreluje z prędkością fali tętna. Dla wyeliminowania różnic w odległości jaką fala tętna musi przebyć od aorty do paliczka w zależności od budowy anatomicznej u różnych osób,  $SI_{DVP}$  określa się jako iloraz wzrostu do PPT.  $RI_{DVP}$  to parametr opisujący napięcie małych naczyń. Obliczony jest jako stosunek amplitudy fali odbitej do fali rozchodzącej się na obwód wyrażony w procentach (43,53,54) (Rycina 7).



Rycina 7. Parametry sztywności naczyniowej oceniane w badaniu fotopletyzmograficznym. Linia czerwona – fala pierwotna, linia niebieska – fala odbita, linia czarna przerywana – ostateczny kształt fali tętna, a – amplituda fali rozchodzącej się, b – amplituda fali odbitej, PPT – „peak-to-peak time”,  $SI_{DVP}$  – współczynnik sztywności tętnic,  $RI_{DVP}$  - współczynnik odbicia.

W ocenie sztywności naczyń stosuje się również metody obrazowe, jak rezonans magnetyczny i ultrasonografia z funkcją Doppler. Ocenie podlega zależność zmian pola powierzchni i średnicy naczyń tętniczych od wartości ciśnienia tętna (39).

### ***Wpływ cyklu miesięczkowego na sztywność naczyń***

Hormony stanowią ważne czynniki regulujące czynność i funkcję układu krążenia. Jak dotąd nie wiadomo jednak czy cykliczne zmiany stężenia hormonów płciowych zachodzące w przebiegu cyklu miesięczkowego mają istotny wpływ na modyfikację zjawisk hemodynamicznych. Obserwacje pochodzą z nielicznych badań przeprowadzonych na małych grupach (10-30 kobiet), słabo scharakteryzowanych endokrynologicznie i ginekologicznie, a otrzymane wyniki są niejednoznaczne i wielokrotnie sprzeczne.

Najwcześniejsze badania skupiały się na ocenie obwodowego ciśnienia tętniczego w różnych fazach cyklu miesięczkowego. W badaniu przeprowadzonym w grupie 26 kobiet wykazano wzrost skurczowego ciśnienia obwodowego w czasie fazy owulacyjnej w porównaniu z fazą folikularną i lutealną, co tłumaczono wysokimi

stężeniami krążącego estradiolu, który miałby działać wazokonstrykcyjnie. W badaniu nie odnotowano zmian wartości ciśnienia rozkurczowego (55). W innym badaniu, w grupie 16 kobiet w fazie lutealnej cyklu uzyskano niższe wartości MBP i systemowego oporu naczyniowego aniżeli w fazie folikularnej, co wiązano z czynnością wydzielniczą ciała żółtego oraz wysokimi stężeniami progesteronu i estradiolu (56).

Za pomocą badań ultrasonograficznych z zastosowaniem sondy z funkcją Doppler, a później także tonometrii aplanacyjnej, niektórzy autorzy dokonywali pomiarów podatności naczyń tętniczych (*compliance*), pojęcia przeciwstawnego do sztywności tętnic. W badaniach tych podatność naczyń wzrastała stopniowo od początku cyklu do owulacji, a następnie zmniejszała się w fazie lutealnej (57,58).

Rozwój metod nieinwazyjnych pozwalających na ocenę ciśnienia oraz sztywności naczyń centralnych pozwolił na dokładniejszą analizę parametrów hemodynamicznych w trakcie cyklu miesięczkowego. W jednym z badań przeprowadzono analizę zmienności sztywności naczyniowej w trakcie cyklu miesięczkowego, u zdrowych ciężarnych oraz kobiet w ciąży powikłanej stanem przedzucawkowym. W grupie 10 regularnie miesiączkujących kobiet w wieku reprodukcyjnym wykazano istotne statystycznie różnice w wartości centralnego indeksu wzmocnienia, który był znacząco niższy w fazie lutealnej cyklu. Zanotowano także różnice w centralnym AI oraz PWV pomiędzy zdrowymi i chorymi ciężarnymi: AI oraz PWV były znacząco wyższe u kobiet z rozpoznaniem stanem przedzucawkowym (59). Inne badanie przeprowadzone w grupie 23 kobiet pokazało odmienny profil zmian w trakcie cyklu. Zarówno centralne jak i obwodowe ciśnienie tętnicze oraz cAI były najniższe w późnej fazie folikularnej i utrzymywały się na niskim poziomie we wczesnej fazie lutealnej, współistniejąc ze wzrostem stężenia E2 i NO. Nie wykazano różnic w centralnej i obwodowej PWV (60). W pracach części autorów nie wykazano żadnych istotnych różnic dla badanych parametrów hemodynamicznych i opisujących sztywność naczyniową w przebiegu cyklu miesięczkowego (61,62).

Możliwość identyfikacji u młodych kobiet wczesnych czynników ryzyka chorób układu krążenia, do których należą podwyższone ciśnienie oraz zwiększona sztywność centralnych naczyń tętniczych, może umożliwić wcześniejsze wdrożenie działań profilaktycznych, modyfikacji stylu życia oraz leczenia. Syntetyzowane w różnych proporcjach w czasie cyklu miesięczkowego hormony płciowe mogą wykazywać istotny wpływ na hemodynamikę układu krążenia. Chcąc skonstruować

model predykcyjny, identyfikujący młode kobiety u których ryzyko zachorowania na choroby układu krążenia jest podwyższone należy wyjaśnić, czy zachodzące fizjologicznie zmiany hormonalne, a więc faza cyklu miesięczkowego, mogą mieć wpływ na wartość predykcyjną stosowanych metod diagnostycznych. Jak dotąd brak opracowań dających w tej kwestii jednoznaczną odpowiedź.

### III. CEL PRACY

Celem pracy była ocena parametrów hemodynamicznych oraz właściwości mechanicznych naczyń tętniczych w trzech charakterystycznych punktach czasowych cyklu miesięczkowego u zdrowych, regularnie miesiączkujących kobiet w wieku rozrodczym, tj. we:

- i. wczesnej fazie folikularnej
- ii. późnej fazie folikularnej
- iii. środkowej fazie lutealnej

Cel ten realizowany był poprzez:

1. Ocenę ciśnienia skurczowego, rozkurczowego, średniego i ciśnienia tętna w tętnicy promieniowej i aorcie wstępującej
2. Ocenę sztywności naczyń tętniczych i fali tętna obwodowego i centralnego z uwzględnieniem parametrów:
  - i. centralnego i obwodowego indeksu wzmocnienia,
  - ii. centralnego ciśnienia wzmocnienia,
  - iii. pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego,
  - iv. czasu pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego,
  - v. czasu wyrzutu,
  - vi. wzmocnienia ciśnienia tętna
3. Ustalenie związków pomiędzy hormonami i parametrami biochemicznymi a parametrami hemodynamicznymi i sztywnością naczyniową

#### IV. MATERIAŁ

Badaniem objęto 61 zdrowych, regularnie miesiączkujących, normotensyjnych kobiet.

Do badania zakwalifikowano kobiety spełniające jednocześnie wszystkie kryteria wymienione poniżej:

1. Pisemna świadoma zgoda na udział w badaniu klinicznym
2. Wiek 18 - 40 lat
3. Regularne cykle miesiączkowe ( $28 \pm 5$  dni)
4. Brak wykładników hiperandrogenizacji i hiperandrogenemii.

Z badania wyłączono kobiety, u których stwierdzono obecność przynajmniej jednego z poniższych kryteriów wyłączających:

1. Nieregularne cykle miesiączkowe (powyżej 34 dni) lub wtórny brak miesiączki powyżej 3 miesięcy
2. Hiperandrogenizm (hirsutyzm i/lub trądzik) i/lub hiperandrogenemia (stężenie testosteronu całkowitego w surowicy krwi powyżej 0,8 ng/ml)
3. Hiperprolaktynemia (stężenie prolaktyny w surowicy krwi powyżej 30 ng/ml)
4. Stosowanie obecnie lub w czasie ostatnich dwóch miesięcy leczenia hormonalnego
5. Zażywanie leków wpływających na układ krążenia
6. Stosowanie substancji uzależniających i pobudzających
7. Nowotwór jajnika, nadnerczy, endometrium, szyjki macicy, gruczołu piersiowego lub inna choroba nowotworowa
8. Klinicznie rozpoznana choroba Cushinga, akromegalia, gigantyzm, choroby tarczycy
9. Nadciśnienie tętnicze
10. Cukrzyca typu I lub II
11. Niewyjaśnione krwawienie z dróg rodnych

Spośród 61 kobiet objętych badaniem analizie poddano wyniki 55. Z badania wyłączono 6 kobiet z następujących powodów: u jednej stwierdzono laboratoryjne wykładniki hiperandrogenizmu nadnerczowego, u jednej kliniczne i sonograficzne wykładniki zespołu policystycznych jajników, u trzech

kobiet nie potwierdzono wystąpienia owulacji w badanym cyklu, jedna pacjentka zrezygnowała z udziału w badaniu po pierwszej z trzech zaplanowanych wizyt.



## V. METODY

Rekrutacja kobiet do badania odbyła się po przeprowadzeniu akcji edukacyjno-informacyjnej dotyczącej chorób układu krążenia w uczelniach wyższych miasta Poznania (poza Uniwersytetem Medycznym) w latach 2010-2013, w czasie której oferowano udział w badaniach dla chętnych ochotniczek.

Od każdej z uczestniczek uzyskano świadomą pisemną zgodę na udział w przeprowadzonym badaniu klinicznym.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 665/09, z dnia 18.06.2009).

Uczestniczki zostały poddane badaniom trzykrotnie w czasie jednego, samoistnego cyklu miesięczkowego:

1. We wczesnej fazie folikularnej (early follicular phase – EFP, pomiędzy 3 a 5 dniem cyklu miesięczkowego)
2. W późnej fazie folikularnej (late follicular phase – LFP, pomiędzy 11 a 14 dniem cyklu)
3. W środku fazy lutealnej (luteal phase – LP, pomiędzy 20 a 22 dniem cyklu).

Podczas każdej z trzech wizyt przeprowadzono badanie fizykalne, ginekologiczne (USG i badanie dwuręczne), oznaczenia biochemiczne oraz badanie układu krążenia.

Ogólne badanie fizykalne, antropometryczne, ginekologiczne i ultrasonograficzne wykonano w Klinice Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Oznaczenia hormonalne i biochemiczne przeprowadzono w Centralnym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Badania oceniające strukturę i funkcję układu krążenia przeprowadzone zostały w Katedrze i Klinice Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Podczas **pierwszej wizyty, EFP (3 - 5 d.c.):**

- Zebrano dokładny wywiad lekarski, ze szczególnym uwzględnieniem: wywiadu miesięczkowego (długości i regularności cykli miesięczkowych), wywiadu położniczego (przebytych ciąż i sposobu ich ukończenia), chorób przewlekłych, wywiadu rodzinnego (zwłaszcza chorób endokrynologicznych i nowotworowych), stosowanych obecnie i w przeszłości leków, zwłaszcza hormonalnych oraz używek.
- Zmierzono wzrost, masę ciała i obliczono wskaźnik masy ciała (BMI), wg wzoru:

$$\text{BMI [kg/m}^2\text{]} = \text{masa ciała} / \text{wzrost}^2$$

- Przeprowadzono ogólne badanie fizykalne wraz z badaniem ginekologicznym i dopochwowym badaniem ultrasonograficznym.
- Oznaczono stężenia hormonów w surowicy krwi (wartości referencyjne właściwe dla laboratorium podano w nawiasach):
  - Folikulotropina - FSH (faza folikularna: 3,5 - 12,5 mIU/ml)
  - Lutropina - LH (faza folikularna: 2,4 - 12,6 mIU/ml)
  - Estradiol - E<sub>2</sub> (faza folikularna: 12,5 - 166,0 pg/ml)
  - Testosteron - T (0,06 - 0,82 ng/ml)
  - Globulina wiążąca hormony płciowe - SHBG (26,1 - 110,0 nmol/l)
  - Siarczan dehydroepiandrosteronu - DHEAS (4,02 – 11,0 μmol/l)
  - Prolaktyna - PRL (4,79 - 23,3 ng/ml)
  - Tyreotropina - TSH (0,27 - 4,2 μIU/ml)
- Oznaczono stężenia wybranych parametrów biochemicznych (po co najmniej 12 godzinach na czczo):
  - Cholesterol całkowity - TCh (50 - 200 mg/dl)
  - Frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o niskiej gęstości – LDL-Ch (35 - 130 mg/dl)
  - Frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o wysokiej gęstości – HDL-Ch (35 - 70 mg/dl)
  - Trójglicerydy - TG (50 - 150 mg/dl)
- Przeprowadzono również doustny dwugodzinny test obciążenia 75 g glukozy – OGTT, z kolejnymi oznaczeniami glukozy i insuliny: na czczo, po 30', 60', 90' i 120' od obciążenia 75 g glukozy

- Insulina: (na czczo 2,6 - 9,9  $\mu$ IU/ml, między 30 a 120 minutą testu doustnego obciążenia glukozą < 70  $\mu$ IU/ml)
- Glukoza (na czczo 70 - 99 mg/dl, od 30' do 90' < 200 mg/dl, po 120' < 140 mg/dl)

Na podstawie otrzymanych wyników obliczono wskaźniki opisujące insulinowrażliwość, tj.:

- Stosunek glukozy do insuliny na czczo (fasting glucose/insulin ratio – FGIR)

$$\text{FGIR} = \text{glc}_0 [\text{mg/dl}] / \text{ins}_0 [\mu\text{IU/ml}]$$

- Homeostatyczny model oceny (homeostasis model assessment – HOMA)

$$\text{HOMA} = \text{ins}_0 [\mu\text{IU/ml}] \times \text{glc}_0 [\text{mg/dl}] / 405$$

- Ilościowy indeks insulinowrażliwości (quantitative insulin sensitivity check index – QUICKI)

$$\text{QUICKI} = 1 / \{ \log \text{ins}_0 [\mu\text{IU/ml}] + \log \text{glc}_0 [\text{mg/dl}] \}$$

- Indeks insulinowrażliwości wg Matsudy (insulin sensitivity index – ISI)

$$\text{ISI} = 10\,000 / \sqrt{ \text{glc}_0 [\text{mg/dl}] \times \text{ins}_0 [\mu\text{IU/ml}] \times \{ \text{glc}_{\text{mean}} [\text{mg/dl}] \times \text{ins}_{\text{mean}} [\mu\text{IU/ml}] \} }$$

Podczas **drugiej wizyty, LFP (11-14 d.c.)**:

- Oznaczono stężenia hormonów w surowicy krwi:
  - Folikulotropina - FSH (faza okołoowulacyjna: 4,7 - 21,5 mIU/ml)
  - Lutropina - LH (faza okołoowulacyjna: 4,0 - 95,6 mIU/ml)
  - Estradiol - E<sub>2</sub> (faza okołoowulacyjna: 65,8 - 498,0 pg/ml)

Podczas **trzeciej wizyty, LP (20-22 d.c.)**:

- Oznaczono stężenia hormonów w surowicy krwi:
  - Folikulotropina - FSH (faza lutealna: 1,7 - 7,7 mIU/ml)
  - Lutropina - LH (faza lutealna: 1,0 - 11,4 mIU/ml)

- Estradiol - E<sub>2</sub> (faza lutealna: 43,8 - 211,0 pg/ml)
- Progesteron - PROG (faza lutealna: 1,7 - 27,0 ng/ml)

### ***Metodyka badań laboratoryjnych***

Krew do badań laboratoryjnych pobierano z żył przedramienia, w godzinach porannych (7:00-9:00) w ilości około 20 ml, po 12 godzinnym okresie na czczo. Po wytworzeniu skrzepu krew poddawano wirowaniu z przyspieszeniem 1500 g przez 10 minut, a uzyskaną surowicę częściowo wykorzystano natychmiast do wykonania zaplanowanych oznaczeń, a częściowo zamrożono w temperaturze -70°C do dalszych badań.

Wszystkie oznaczenia hormonalne wykonane zostały metodą elektrochemiluminescencyjną za pomocą analizatora Cobas e601 firmy Roche Diagnostics, z użyciem odpowiednich testów, dedykowanych wybranym hormonom.

W celu oznaczenia stężeń FSH, LH, PRL, TSH, SHBG i insuliny wykorzystano tzw. metodę kanapkową (ang. „sandwich” ELISA). Badana surowica podlega inkubacji ze specyficznymi dla danego hormonu dwoma rodzajami przeciwciał monoklonalnych: biotynylowanymi i znakowanymi kompleksem rutenu [Ru(bpy)<sup>3</sup>]<sup>2+</sup>. Wynikiem zaistniałych interakcji jest powstanie kompleksu antygen-przeciwciało, w którym cząsteczka hormonu objęta jest z dwóch stron przez dodane przeciwciała („kanapka”). W kolejnym etapie do powstałego kompleksu immunologicznego dodaje się mikrocząsteczki paramagnetyczne opłaszczone streptawidyną. W wyniku powinowactwa streptawidyna-biotyna powstały wcześniej kompleks wiąże się z fazą stałą. Mieszanina reakcyjna zostaje przeniesiona do komory pomiarowej, w której mikrocząsteczki paramagnetyczne w kompleksach immunologicznych zostają przyciągnięte przez magnes do powierzchni elektrody platynowej, a niezwiązane substancje usunięte. Ilość znakowanych przeciwciał związanych z substratem jest wprost proporcjonalna do jego stężenia w surowicy. Na tym etapie do mieszaniny dodaje się kompleks ProCell zawierający trójpropyloaminę. Poprzez przyłożenie napięcia do elektrody indukowana zostaje reakcja chemiluminescencji. Zachodzący na powierzchni elektrody szereg reakcji rodnikowych prowadzi do emisji światła o

długości fali 620 nm. Emitowany strumień fotonów zostaje zmierzony przy użyciu fotopowielacza. Wyniki zostają automatycznie przeliczone przy użyciu krzywej kalibracyjnej

Oznaczenia stężeń Estradiolu, Progesteronu i DHEAS wykonano metodą kompetycyjną (ang. competitive ELISA). W odróżnieniu od metody kanapkowej badaną surowicę inkubuje się ze specyficznym dla danego hormonu biotynylowanym przeciwciałem oraz znakowaną kompleksem rutenu egzogenną pochodną (haptenem) oznaczanego hormonu. W trakcie inkubacji dochodzi do konkurencji pomiędzy znakowanym haptenem a badanym związkiem o miejsce wiązania na przeciwciele. Dalsze etapy: dodanie paramagnetycznych mikrocząsteczek opłaszczonych streptawidyną, wiązanie z fazą stałą i reakcja chemiluminescencji przebiegają podobnie jak w metodzie kanapkowej. Ilość znakowanego substratu jest odwrotnie proporcjonalna do ilości badanego hormonu w surowicy.

Badania biochemiczne wykonano przy użyciu analizatora Cobas c501 firmy Roche Diagnostics.

Oznaczenia stężeń lipidów i glukozy wykonano z zastosowaniem metody enzymatyczno-kolorymetrycznej. Metoda polega na przeprowadzeniu specyficznych reakcji enzymatycznych w wyniku których z badanego związku powstaje barwny produkt. Natężenie barwy powstałej substancji oznacza się kolorymetrem poprzez pomiar absorbancji przy danej długości fali światła. Enzymami używanymi przy oznaczaniu stężenia cholesterolu całkowitego są esteraza i oksydaza cholesterolu a barwnym produktem jest chininoimina. Intensywność powstałego czerwonego zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu w badanej próbce i mierzona przez wzrost absorbancji przy długości fali 505 nm. Stężenie cholesterolu HDL jest oznaczane przy użyciu esterazy cholesterolowej i oksydazy cholesterolowej przyłączonej z polietylenoglikolem do grup aminowych. W wyniku serii reakcji enzymatycznych powstaje fioletowo-niebieski produkt, którego stężenie jest wprost proporcjonalne do HDL-Ch i zostaje zmierzone fotometrycznie przy długości fali 600 nm. Enzymami stosowanymi do oceny stężenia trójglicerydów są kinaza glicerolowa i oksydaza glicerolofosforanowa. Po dodaniu 4-aminofenazonu powstaje czerwono zabarwiona chininoamina, wzrost absorbancji mierzy się przy długości fali 505 nm. Stężenie cholesterolu LDL oblicza się wg wzoru Friedewalda:

$$\text{LDL-Ch} = \text{TCh} - \text{HDL-Ch} - \text{TG}/5 \text{ [mg/dl]}$$

Pomiar stężenia glukozy wykonano z zastosowaniem metody enzymatycznej z heksokinazą. Produktem serii reakcji enzymatycznych jest zredukowana forma

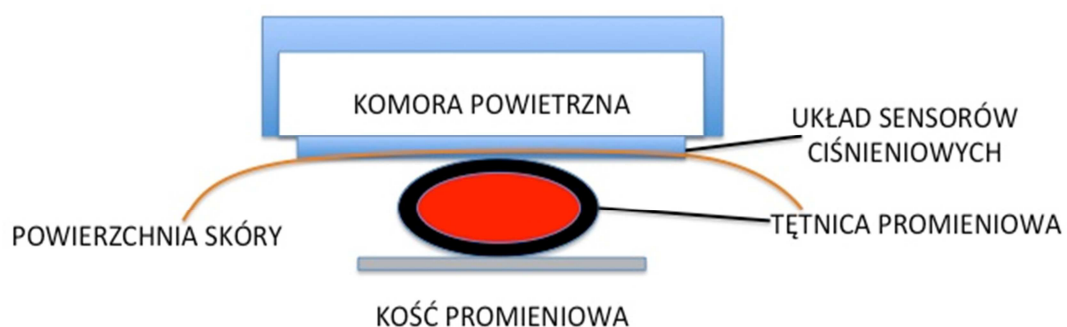
NADH, której stężenie jest wprost proporcjonalne do stężenia glukozy . Dokonuje się pomiaru wzrostu absorbancji przy długości fali 340 nm.

Podczas każdej z wizyt wykonane zostało ultrasonograficzne dopochwowe badanie ginekologiczne głowicą o częstotliwości 5-7 MHz przy użyciu ultrasonografu ALOKA ProSound  $\alpha$ 7 (Aloka Co, Ltd, Tokio, Japonia) z oceną objętości jajników (po wykonaniu pomiarów jajnika w trzech prostopadłych płaszczyznach i z wykorzystaniem formuły dla elipsoidu), wielkości i ilości pęcherzyków jajnikowych, obecności ciała żółtego i płynu w zatoce Douglasa oraz pomiarem grubości endometrium.

### ***Nieinwazyjne metody oceny układu krążenia***

Każdorazowo przeprowadzona została ocena funkcji układu krążenia na podstawie analizy parametrów obwodowego i centralnego ciśnienia tętniczego oraz sztywności naczyniowej i fali tętna. Badania odbywały się w godzinach okołopołudniowych, w pozycji leżącej, w cichym pomieszczeniu i w umiarkowanej, komfortowej temperaturze otoczenia, po 15 minutowym odpoczynku.

Oceny obwodowego i centralnego ciśnienia tętniczego oraz parametrów opisujących sztywność naczyń tętniczych dokonano wykorzystując metodę tonometrii



aplanacyjnej. Metoda polega na aplanacji czyli spłaszczeniu światła naczynia (w tym przypadku tętnicy promieniowej) przez ciśnienie wytworzone poprzez tonometr na ustabilizowaną w swoim położeniu (dzięki przebiegającej pod nią kości) tętnicę. Ciśnienie wewnątrznaczyniowe zostaje zwrotnie przekazane przez ścianę naczynia i leżące nad nią tkanki do przetwornika piezoelektrycznego zlokalizowanego w układzie sensorów urządzenia (Rycina 8) (63).

Rycina 8. Schemat działania nadgarstkowego tonometru aplanacyjnego.

W badaniu wykorzystano nadgarstkowy piezoelektryczny tonometr aplanacyjny Colin BMP 7000 (Colin Co, Japonia) umożliwiający ciągłą, nieinwazyjną rejestrację fali tętna na tętnicy promieniowej w czasie rzeczywistym. Do pomiarów bezwzględnych wartości ciśnień tętniczych wymagana była kalibracja wartości ciśnienia tętnicy promieniowej w oparciu o pomiary ciśnienia na poziomie tętnicy ramiennej metodą oscylometryczną.

Sygnał z tonometru przekazywany był do urządzenia Sphygmocor MX (AtCor Medical, Australia), który za pomocą funkcji transferowej obliczonej na podstawie inwazyjnych badań empirycznych (przy uwzględnieniu danych osobniczych – wieku, płci, wzrostu, masy ciała) dokonywał rekonstrukcji fali tętna centralnego, odpowiadającego fali w aorcie wstępującej (63). Na podstawie pomiarów tonometrycznych oraz dalszej komputerowej analizy kształtów fal tętna obwodowego i centralnego uzyskano wartości następujących parametrów:

1. obwodowe ciśnienie skurczowe (peripheral systolic blood pressure – pSBP), obwodowe ciśnienie rozkurczowe (peripheral diastolic blood pressure – pDBP), obwodowe ciśnienie tętna (peripheral pulse pressure – pPP) oraz ciśnienie średnie (mean blood pressure – MBP)
2. centralne ciśnienie skurczowe (central systolic blood pressure – cSBP), centralne ciśnienie rozkurczowe (central diastolic blood pressure – cDBP) oraz centralne ciśnienie tętna (central pulse pressure – cPP)
3. obwodowy wskaźnik wzmocnienia (peripheral augmentation index – pAI), centralny (aortalny) wskaźnik wzmocnienia (central augmentation index – cAI), ciśnienie wzmocnienia w aorcie (central augmentation pressure – cAP), pierwszy i drugi szczyt ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej (pP1 i pP2), pierwszy i drugi szczyt ciśnienia skurczowego w aorcie (cP1 i cP2), czas pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej (pT1 i pT2), czas pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej (cT1 i cT2), czas wyrzutu (ejection duration – ED) oraz wskaźnik wzmocnienia ciśnienia tętna (pulse pressure amplification – PPA).

Liczebność grupy badanej dobrano na podstawie analizy mocy statystycznej. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa oraz wstępnych badań własnych założono, iż pierwszorzędowym parametrem określającym sztywność naczyniową porównywanym w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego jest wskaźnik wzmocnienia (AI, augmentation index). Przy ustaleniu najmniejszej spodziewanej różnicy pomiędzy AI w trzech punktach cyklu równej 15%, do uzyskania parametrów mocy statystycznej: błąd typu I alfa = 0,05, błąd typu II beta = 0,20, przy odchyleniu standardowym średniej = 25% wymagana była rekrutacja co najmniej 45 kobiet.

### ***Analiza statystyczna***

Analizę statystyczną wykonano po sprawdzeniu normalności rozkładu zmiennych (testem Shapiro-Wilk) odpowiednio przy pomocy testu ANOVA (dla rozkładu normalnego) lub testu Friedmana (przy braku normalności rozkładu) dla zmiennych powiązanych z następującymi testami post-hoc. Ocena zależności pomiędzy badanymi zmiennymi przeprowadzona została z zastosowaniem korelacji Pearsona lub Spearmana w zależności od normalności rozkładu zmiennych.

Wartość  $p < 0,05$  będzie uważana jako statystycznie istotna. Wyniki przedstawiono jako średnia  $\pm$  odchylenie standardowe (SD).



## VI. WYNIKI

### *Charakterystyka grupy badanej*

Badanie zostało przeprowadzone w grupie 55 zdrowych regularnie miesiączkujących kobiet w wieku rozrodczym. W tabeli 1. przedstawiono kliniczną charakterystykę grupy badanej (wyniki przedstawiono jako średnia  $\pm$  SD).

Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej, n=55

PARAMETRY	ŚREDNIA	+/- SD
WIEK [lata]	29,5	5,3
MASA CIAŁA [kg]	62,6	11,6
WZROST [cm]	167,9	5,7
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,2	3,7
DŁUGOŚĆ CYKLU [dni]	28	2

We wczesnej fazie folikularnej cyklu miesięczkowego określono profil hormonalny (Tabela 2.) oraz oceniono wybrane parametry biochemiczne (Tabela 3.) badanej grupy kobiet. Otrzymane wyniki zawierały się w granicach norm laboratoryjnych.

Tabela 2. Charakterystyka grupy badanej – stężenia hormonów

PARAMETRY	ŚREDNIA	+/- SD
TESTOSTERON [ng/ml]	0,31	0,14
SHBG [nmol/l]	67,4	34,3
DHEAS [μmol/l]	6,5	2,4
PRL [ng/ml]	14,8	7,6
TSH [μIU/ml]	1,95	0,95

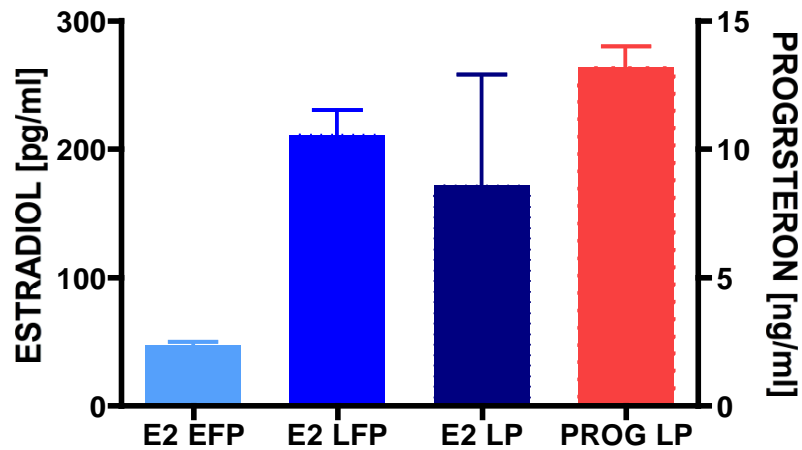
Tabela 3. Charakterystyka grupy badanej – parametry biochemiczne

PARAMETRY	ŚREDNIA	+/- SD
TCh [mg/dl]	180,1	34,2
TG [mg/dl]	62,7	22,6
LDL-Ch [mg/dl]	99,1	27,9
HDL-Ch [mg/dl]	68,1	13,9
FGIR [mg/ $\mu$ IU]	16,9	6,9
HOMA	1,4	0,8
QUICKI	0,37	0,03
ISI	8,0	3,4

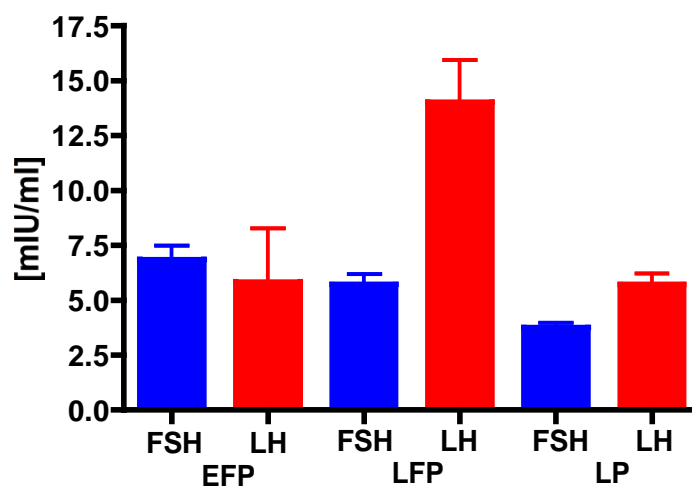
Średnie stężenie estradiolu w badanej grupie wynosiło: we wczesnej fazie folikularnej  $47,6 \pm 20,5$  pg/ml, w późnej fazie folikularnej  $211,1 \pm 139,0$  pg/ml, w fazie lutealnej  $171,9 \pm 86,4$  pg/ml. Średnie stężenie progesteronu oznaczone w środkowej fazie lutealnej wskazywało na odbyłą owulację i równało się  $13,2 \pm 6,1$  ng/ml (Rycina 9). Ze względu na niskie, nieprzekraczające 1 ng/ml, stężenia progesteronu występujące przed owulacją nie dokonano ich oceny we wczesnej i późnej fazie folikularnej.

Stężenia gonadotropin FSH i LH wynosiły odpowiednio: we wczesnej fazie folikularnej  $6,9 \pm 4,4$  mIU/ml i  $5,8 \pm 2,4$  mIU/ml, w późnej fazie folikularnej  $5,7 \pm 3,5$  mIU/ml i  $14,0 \pm 14,2$  mIU/ml, w fazie lutealnej  $3,8 \pm 1,4$  mIU/ml i  $5,7 \pm 3,8$  mIU/ml (Rycina 10).

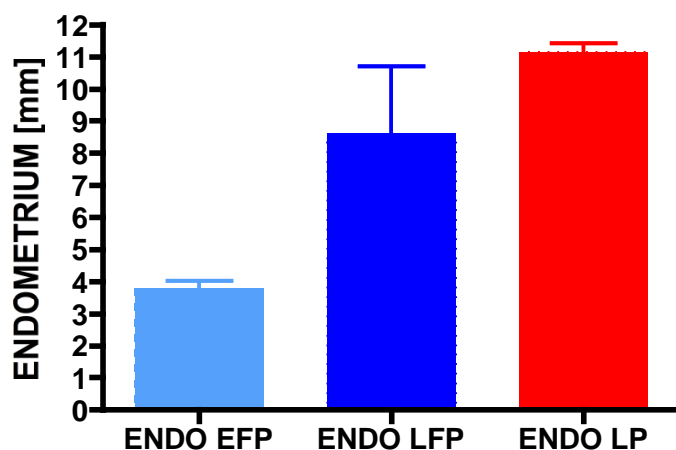
Analiza wybranych parametrów ultrasonograficznych wykazała, że średnia średnica pęcherzyka dominującego w późnej fazie folikularnej wynosiła  $15,7 \pm 2,8$  mm, a grubość endometrium odpowiednio: we wczesnej fazie folikularnej  $3,8 \pm 1,6$  mm, w późnej fazie folikularnej  $8,6 \pm 2,1$  mm oraz  $11,2 \pm 1,9$  mm w środkowej fazie lutealnej (Rycina 11).



Rycina 9. Średnie stężenie estradiolu (E2) oraz progesteronu (PROG) we wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP) i fazie lutealnej (LP) cyklu miesięczkowego w grupie badanej. Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$ SD.



Rycina 10. Średnie stężenie gonadotropin FSH i LH we wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP) i fazie lutealnej (LP) cyklu miesięczkowego w grupie badanej. Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

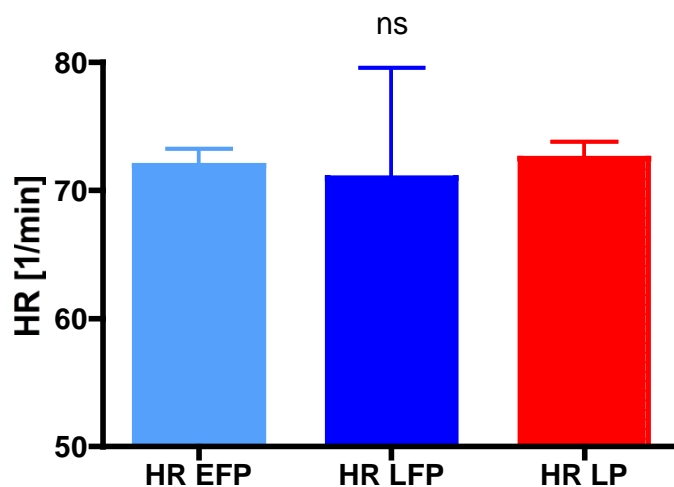


Rycina 11. Średnia grubość endometrium (ENDO) we wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP) i fazie lutealnej (LP) cyklu miesięczkowego w grupie badanej. Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

### **Parametry hemodynamiczne**

Zaobserwowano, iż częstotliwość rytmu serca (HR) (EFP vs LFP vs LP;  $71,9 \pm 9,4$  1/min vs  $71,0 \pm 8,6$  1/min vs  $72,5 \pm 9,1$  1/min,  $p=ns$  – nieistotnie statystycznie) nie różniła się istotnie statystycznie w trzech badanych fazach cyklu (Rycina 12). Ponieważ HR jest parametrem, który może wpływać na pozostałe zjawiska hemodynamiczne, należało wykluczyć go jako potencjalny czynnik sprawczy zmian wartości ciśnienia. Stwierdzenie braku jego zmienności w czasie cyklu umożliwiło dalszą analizę statystyczną otrzymanych danych.

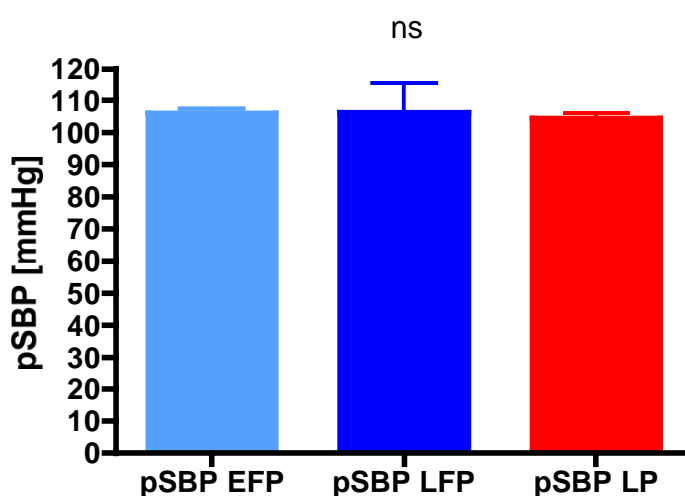
### **CZĘSTOTLIWOŚĆ RYTMU SERCA**



Rycina 12. Częstotliwość rytmu serca (HR) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

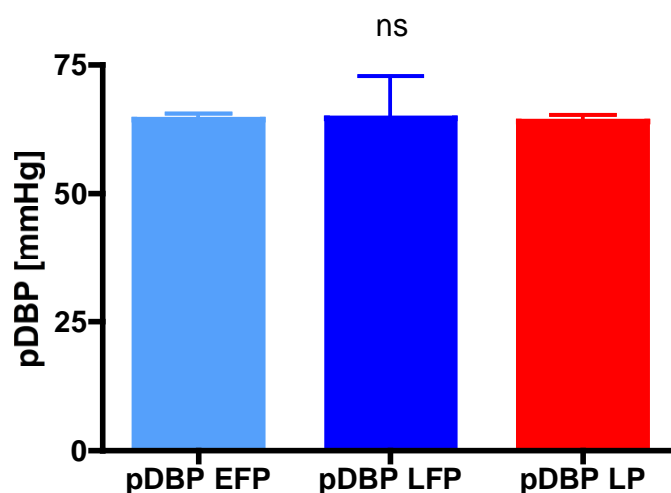
Nie wykazano istotnych różnic w **obwodowym** (tętnica promieniowa) **ciśnieniu tętniczym** (ciśnienie skurczowe, rozkurczowe, średnie, tętna) między fazami cyklu miesięczkowego (EFP vs LFP vs LP). [Ciśnienie skurczowe ( $106,0 \pm 9,8$  mmHg vs  $106,1 \pm 9,5$  mmHg vs  $104,5 \pm 11,2$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 13), ciśnienie rozkurczowe ( $64,4 \pm 7,4$  mmHg vs  $64,7 \pm 8,1$  mmHg vs  $64,0 \pm 8,4$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 14), ciśnienie średnie ( $78,3 \pm 8,4$  mmHg vs  $78,7 \pm 8,4$  mmHg vs  $77,1 \pm 9,3$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 15), ciśnienie tętna ( $41,6 \pm 6,3$  mmHg vs  $41,4 \pm 7,5$  mmHg vs  $40,4 \pm 5,8$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 16)].

### OBWODOWE CIŚNIENIE SKURCZOWE



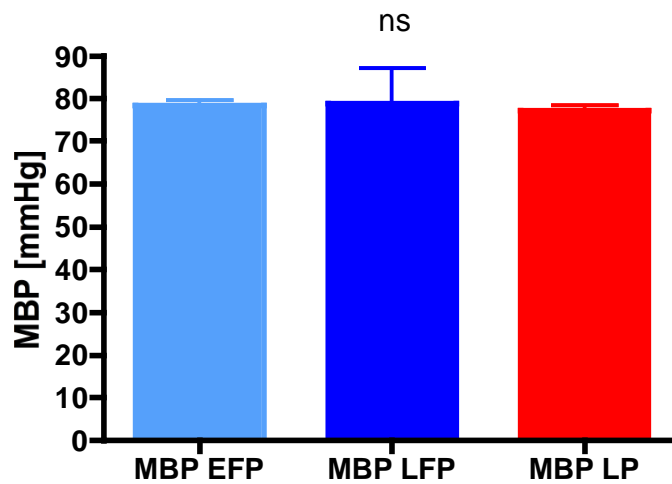
Rycina 13. Obwodowe ciśnienie skurczowe (pSBP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

### OBWODOWE CIŚNIENIE ROZKURCZOWE



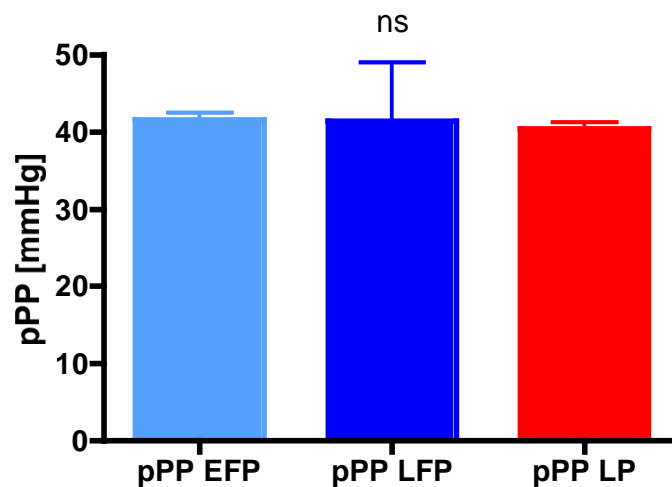
Rycina 14. Obwodowe ciśnienie rozkurczowe (pDBP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

## CIŚNIENIE ŚREDNIE



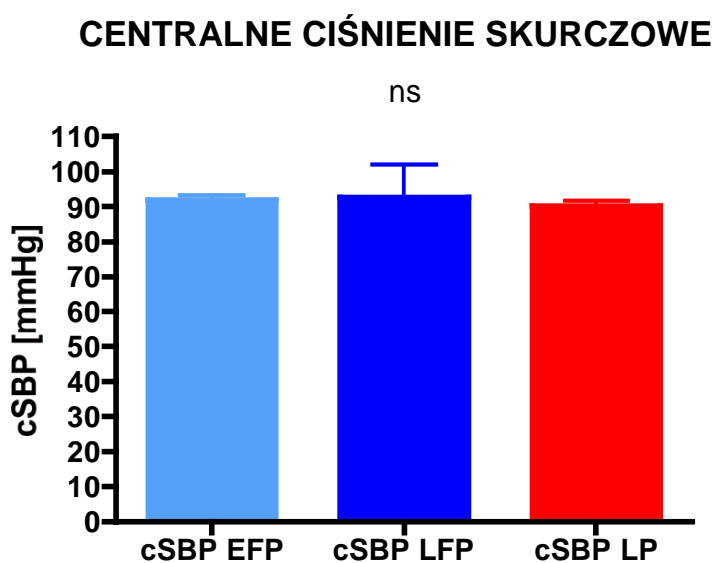
Rycina 15. Ciśnienie średnie (MBP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

## OBWODOWE CIŚNIENIE TĘTNA



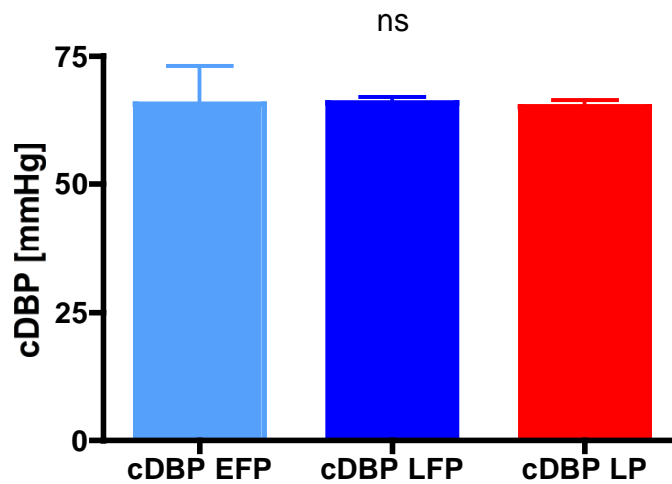
Rycina 16. Obwodowe ciśnienie tętna (pPP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

Wyniki wskazujące na pewne różnice międzyfazowe uzyskano dla parametrów **centralnego ciśnienia tętniczego** odpowiadającego ciśnieniu w aorcie (EFP vs LFP vs LP). Centralne ciśnienie skurczowe ( $91,8 \pm 9,6$  mmHg vs  $92,5 \pm 9,3$  mmHg vs  $90,1 \pm 10,6$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 17) oraz centralne ciśnienie rozkurczowe ( $65,5 \pm 7,5$  mmHg vs  $65,8 \pm 8,1$  mmHg vs  $65,0 \pm 8,5$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 18) nie wykazały istotnych statystycznie różnic w trzech wymienionych punktach czasowych. W odróżnieniu od parametrów obwodowych, stwierdzono istotne statystycznie różnice w wartościach centralnego ciśnienia tętna pomiędzy późną fazą folikularną a fazą lutealną, w której było niższe o 6% (EFP vs LFP =  $26,3 \pm 4,7$  vs  $26,8 \pm 5,4$ ,  $p=ns$ ; EFP vs LP =  $26,3 \pm 4,7$  vs  $25,1 \pm 3,9$ ,  $p=ns$ ; LFP vs LP =  $26,8 \pm 5,4$  vs  $25,1 \pm 3,9$ ,  $p<0,05^*$ ) (Rycina 19).



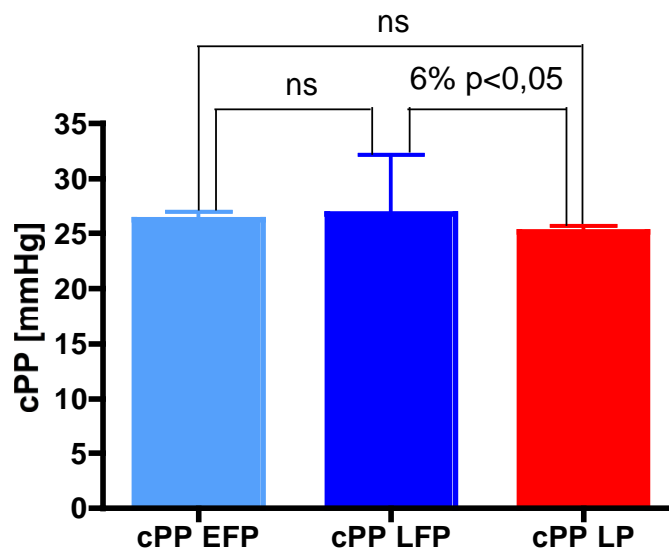
Rycina 17. Centralne ciśnienie skurczowe (cSBP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazy folikularnej (EFP), późnej fazy folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

## CENTRALNE CIŚNIENIE ROZKURCZOWE



Rycina 18. Centralne ciśnienie rozkurczowe (cDBP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

## CENTRALNE CIŚNIENIE TĘTNA

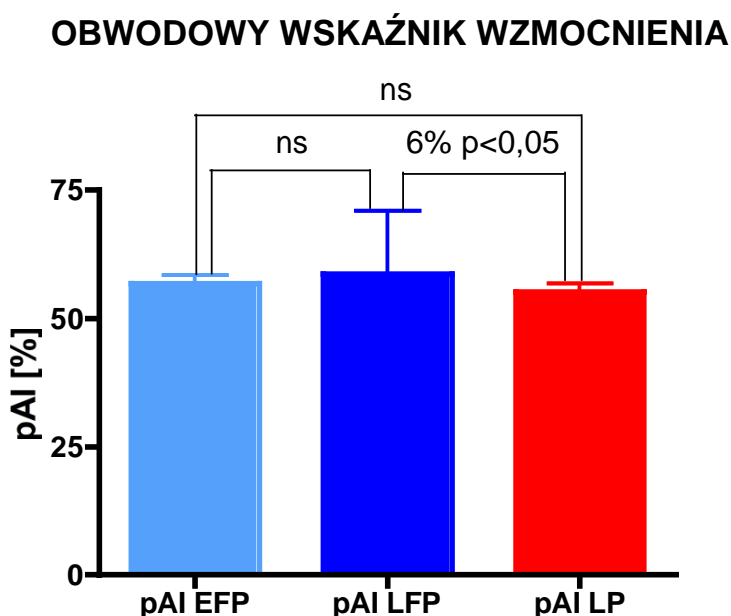


Rycina 19. Centralne ciśnienie tętna (cPP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.



### Parametry opisujące sztywność naczyniową oraz falę tętna

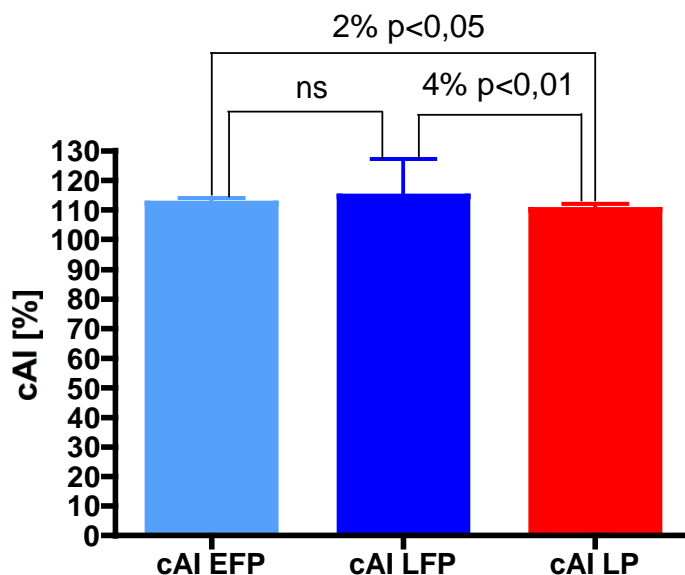
Dokonując analizy fali tętna wykazano istotne statystycznie różnice w wartościach parametrów opisujących sztywność naczyniową w trzech punktach cyklu miesięczkowego. **Obwodowy** wskaźnik wzmocnienia – pAI okazał się istotnie niższy w fazie lutealnej w porównaniu z późną fazą folikularną (o 6%,  $p < 0,05$ ). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy wczesną fazą folikularną a późną fazą folikularną oraz wczesną fazą folikularną a fazą lutealną (EFP vs LFP =  $56,7 \pm 12,0$  vs  $58,6 \pm 12,4$ ,  $p = \text{ns}$ ; EFP vs LP =  $56,7 \pm 12,0$  vs  $55,1 \pm 11,9$ ,  $p = \text{ns}$ ; LFP vs LP =  $58,6 \pm 12,4$  vs  $55,17 \pm 11,9$ ,  $p < 0,05^*$ ) (Rycina 20).



Rycina 20. Obwodowy wskaźnik wzmocnienia (pAI) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

**Centralny** wskaźnik wzmocnienia – cAI miał istotnie niższe wartości w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego w porównaniu zarówno z wczesną jak i z późną fazą folikularną (odpowiednio o 2% oraz 4%). Nie potwierdzono natomiast różnic cAI pomiędzy początkiem i końcem fazy folikularnej (EFP vs LFP =  $112,3 \pm 12,5$  vs  $114,5 \pm 12,7$ ,  $p = \text{ns}$ ; EFP vs LP =  $112,3 \pm 12,5$  vs  $110,1 \pm 12,5$ ,  $p < 0,05^*$ ; LFP vs LP =  $114,5 \pm 12,7$  vs  $110,1 \pm 12,5$ ,  $p < 0,05^*$ ) (Rycina 21).

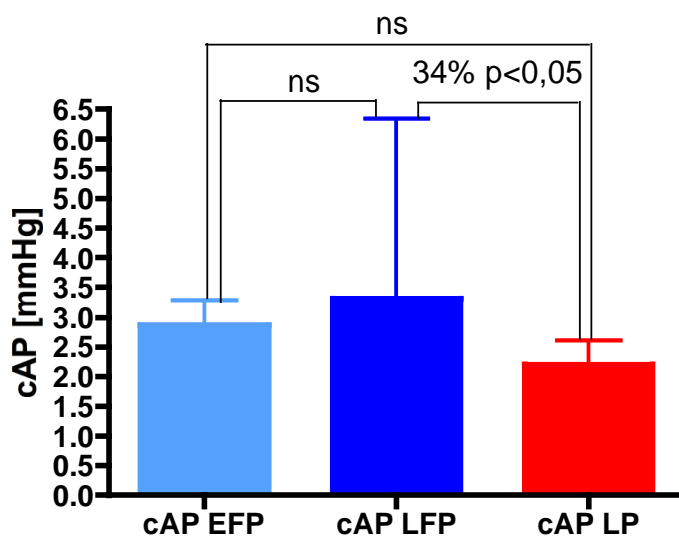
## CENTRALNY WSKAŹNIK WZMOCNIENIA



Rycina 21. Centralny wskaźnik wzmocnienia (cAI) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

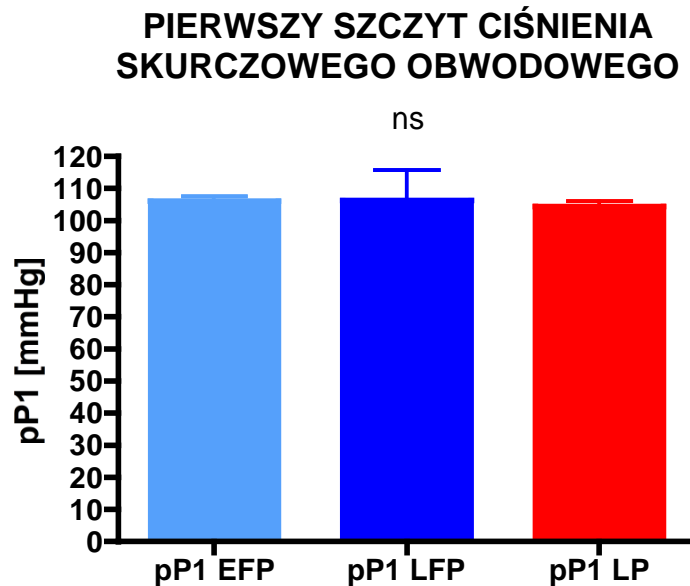
Potwierdzono również istotne statystycznie różnice wartości **centralnego** ciśnienia wzmocnienia – AP pomiędzy fazą lutealną a późną fazą folikularną (niższe w LP o 34% w porównaniu z LFP). Wartości AP nie różniły się znacząco pomiędzy wczesną a późną fazą folikularną oraz wczesną fazą folikularną a fazą lutealną (EFP vs LFP =  $2,9 \pm 2,9$  vs  $3,3 \pm 3,0$ ,  $p=ns$ ; EFP vs LP =  $2,9 \pm 2,9$  vs  $2,2 \pm 2,8$ ,  $p=ns$ ; LFP vs LP =  $3,3 \pm 3,0$  vs  $2,2 \pm 2,8$ ,  $p<0,05^*$ ) (Rycina 22).

## CIŚNIENIE WZMOCNIENIA

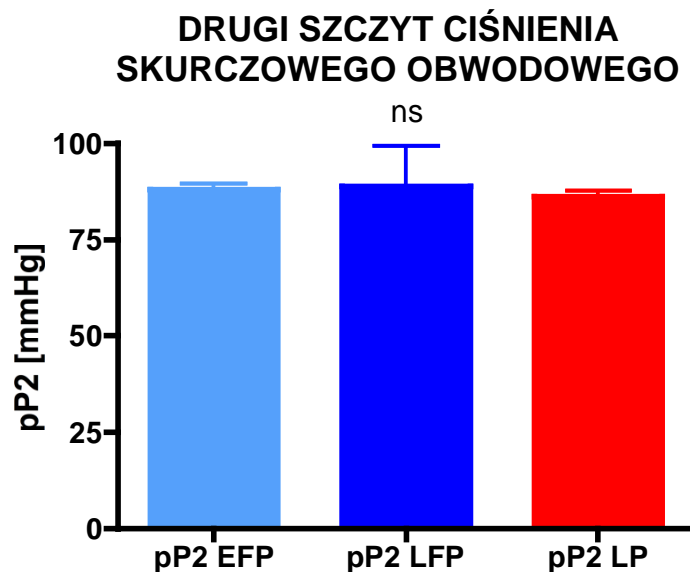


Rycina 22. Ciśnienie wzmocnienia (cAP) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

Porównano także wartości pierwszego (pP1) i drugiego (pP2) szczytu ciśnienia skurczowego fali tętna **obwodowego** i uzyskano wyniki dla pP1 ( $106,0 \pm 9,8$  mmHg vs  $106,1 \pm 9,5$  mmHg vs  $104,5 \pm 11,2$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 23) i pP2 ( $88,0 \pm 10,7$  mmHg vs  $88,8 \pm 10,0$  mmHg vs  $86,1 \pm 11,5$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 24). W obydwu przypadkach różnice nie były istotne.

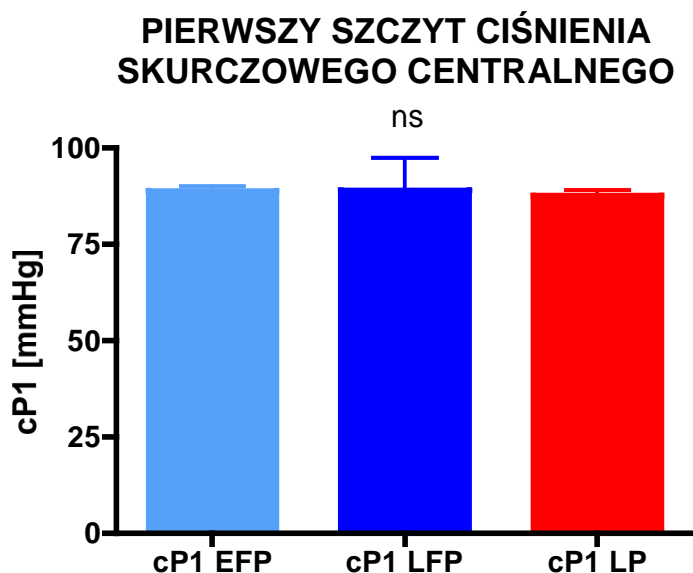


Rycina 23. Wartości pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej (pP1) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

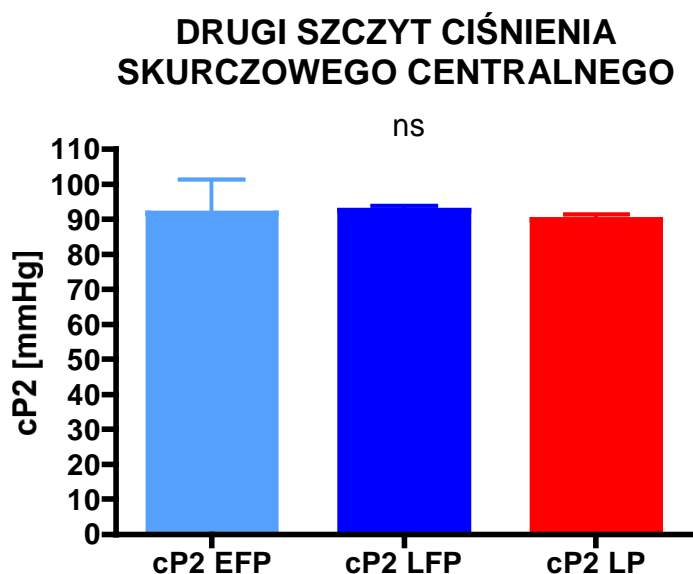


Rycina 24. Wartości drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej (pP2) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

Podobnie kształtują się wyniki wartości **centralnych** szczytów ciśnień skurczowych cP1 i cP2 fali tętna, tj. cP1 ( $88,8 \pm 8,4$  mmHg vs  $89,1 \pm 8,2$  mmHg vs  $87,7 \pm 9,6$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 25) i cP2 ( $91,6 \pm 9,7$  mmHg vs  $92,4 \pm 9,4$  mmHg vs  $89,9 \pm 10,7$  mmHg,  $p=ns$ ) (Rycina 26), ponownie w obydwu przypadkach uzyskane różnice nie były istotne statystyczne.



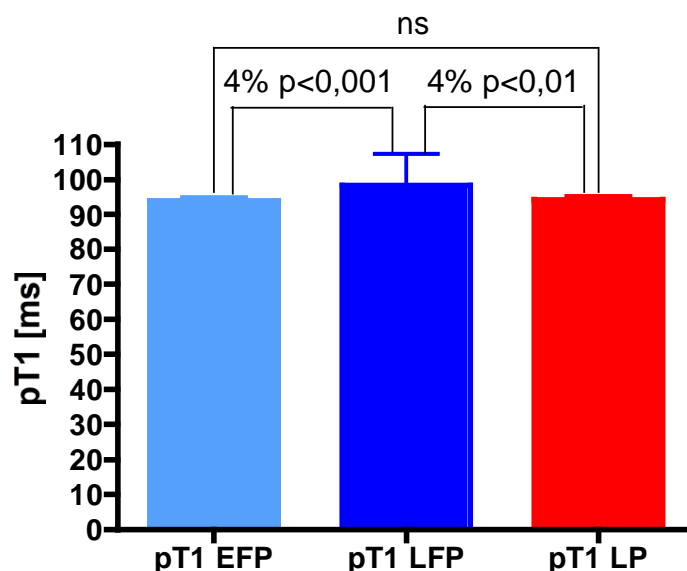
Rycina 25. Wartości pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego w aortic wstępującej (cP1) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.



Rycina 26. Wartości drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w aortic wstępującej (cP2) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

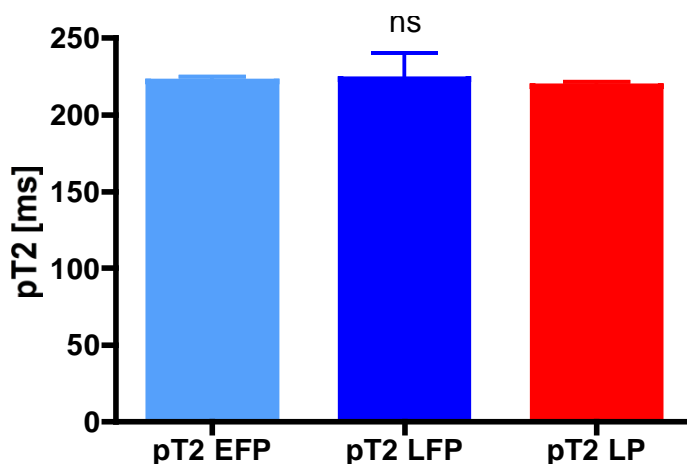
Kolejnymi parametrami poddanymi analizie były czasy pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego (T1 i T2). W przypadku **tętnicy promieniowej** wykazano istotne statystycznie różnice średnich wartości pT1 w poszczególnych fazach cyklu miesiączkowego (Rycina 27). Stwierdzono dłuższy pT1 o 4% w LFP w porównaniu z EFP (EFP vs LFP =  $93,8 \pm 6,8$  vs  $98,2 \pm 9,01$   $p < 0,001^*$ ) oraz dłuższy o 4% w LFP w porównaniu z LP (LFP vs LP =  $98,2 \pm 9,1$  vs  $94,2 \pm 7,4$ ,  $p < 0,01^*$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy czasami pT1 we wczesnej fazie folikularnej i fazie lutealnej (EFP vs LP =  $93,8 \pm 6,8$  vs  $94,2 \pm 7,4$ ,  $p = ns$ ). Wartości czasu drugiego szczytu skurczowego (pT2) nie wykazały istotnych różnic w trzech badanych fazach cyklu ( $221,8 \pm 18,4$  mmHg vs  $223,3 \pm 16,8$  mmHg vs  $218,8 \pm 16,4$  mmHg,  $p = ns$ ) (Rycina 28).

### CZAS PIERWSZEGO SZCZYTU CIŚNIENIA SKURCZOWEGO W TĘTNICY PROMIENIOWEJ



Rycina 27. Czas pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej (pT1) w trzech punktach czasowych cyklu miesiączkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

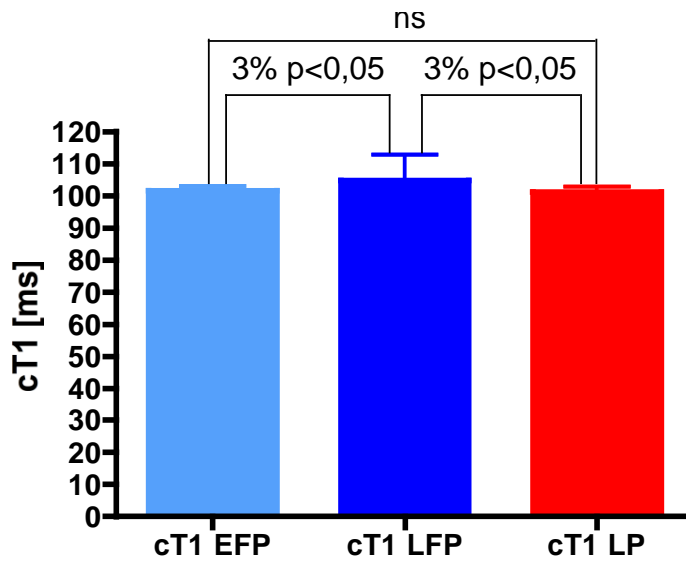
### CZAS DRUGIEGO SZCZYTU CIŚNIENIA SKURCZOWEGO W TĘTNICY PROMIENIOWEJ



Rycina 28. Czas drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej (pT2) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

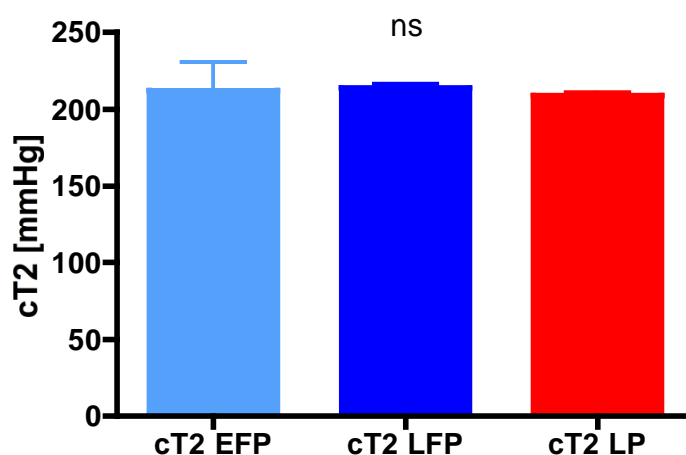
Analogiczne wyniki otrzymano analizując falę tętna **centralnego**. Czas pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego (cT1) w aortie wstępującej różnił się znacząco pomiędzy wczesną i późną fazą folikularną (krótszy o 3% we wczesnej fazie folikularnej) (EFP vs LFP =  $101,6 \pm 9,4$  vs  $104,8 \pm 8,1$ ,  $p < 0,05^*$ ), a także późną fazą folikularną a fazą lutealną (krótszy o 3% w fazie lutealnej) (LFP vs LP =  $104,8 \pm 8,1$  vs  $101,3 \pm 10,3$ ,  $p < 0,05^*$ ), przy braku różnic pomiędzy wczesną fazą folikularną i fazą lutealną (EFP vs LP =  $101,6 \pm 9,4$  vs  $101,3 \pm 10,3$ ,  $p = ns$ ) (Rycina 29). Wyniki dla czasu drugiego szczytu ciśnienia skurczowego cT2 nie różniły się istotnie pomiędzy fazami ( $212,1 \pm 18,1$  mmHg vs  $213,7 \pm 17,6$  mmHg vs  $208,9 \pm 15,1$  mmHg,  $p = ns$ ) (Rycina 30).

### CZAS PIERWSZEGO SZCZYTU CIŚNIENIA SKURCZOWEGO W AORCIE WSTĘPUJĄCEJ



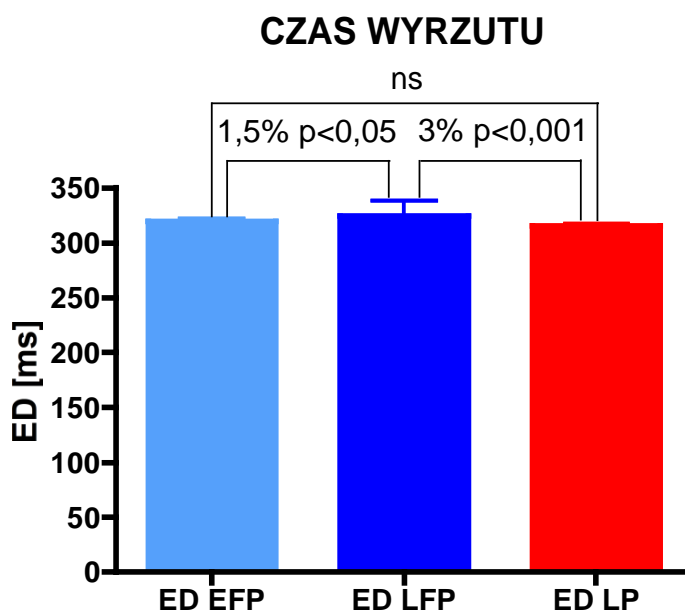
Rycina 29. Czas pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej (cT1) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

### CZAS DRUGIEGO SZCZYTU CIŚNIENIA SKURCZOWEGO W AORCIE WSTĘPUJĄCEJ



Rycina 30. Czas drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w aorcie wstępującej (cT2) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

Czas wyrzutu (ED) ujawnił zależność podobną do cT1. Różnice wykazano dla wczesnej i późnej fazy folikularnej (EFP vs LFP =  $319,8 \pm 15,4$  vs  $324,5 \pm 14,0$ ,  $p < 0,05^*$ ) oraz późnej fazy folikularnej i fazy lutealnej (LFP vs LP =  $324,5 \pm 14,0$  vs  $315,5 \pm 14,7$ ,  $p < 0,001^*$ ) (krótszy odpowiednio o 1,5 % w EFP do LFP oraz o 3% w LP do LFP), bez istotnej zmienności pomiędzy wczesną fazą folikularną i fazą lutealną (EFP vs LP =  $319,8 \pm 15,4$  vs  $315,5 \pm 14,7$ ,  $p = ns$ ) (Rycina 31).

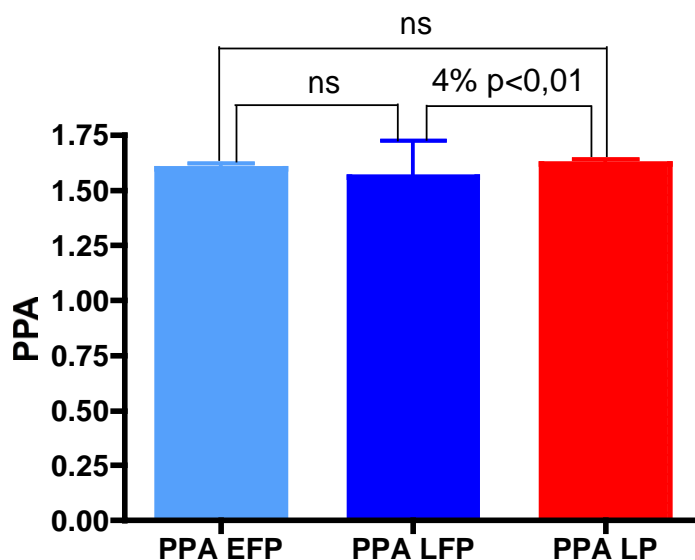


Rycina 31. Czas wyrzutu (ED) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazy folikularnej (EFP), późnej fazy folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

Analiza wartości wskaźnika wzmocnienia ciśnienia tętna pomiędzy tętnicą centralną a obwodową (PPA) wykazała istotne statystycznie różnice pomiędzy późną fazą folikularną a fazą lutealną, przy czym wartości w fazie lutealnej były wyższe o 4%. Wartości PPA nie różniły się istotnie pomiędzy wczesną i późną fazą folikularną oraz wczesną fazą folikularną i fazą lutealną (EFP vs LFP =  $1,60 \pm 0,16$  vs  $1,56 \pm 0,16$ ,  $p = ns$ ; EFP vs LP =  $1,60 \pm 0,16$  vs  $1,62 \pm 0,15$ ,  $p = ns$ ; LFP vs LP =  $1,56 \pm 0,16$  vs  $1,62 \pm 0,15$ ,  $p < 0,01^*$ ) (Rycina 32).



## WZMOCNIENIE CIŚNIENIA TĘTNA

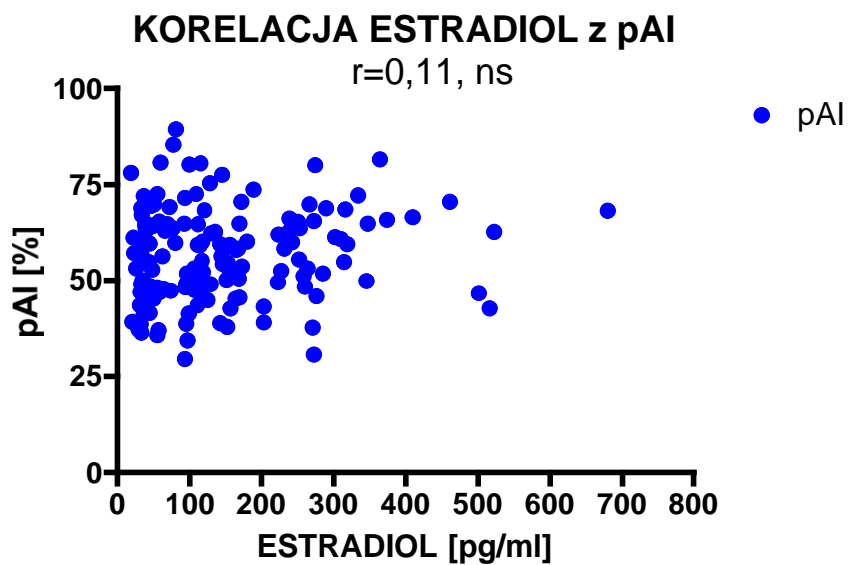


Rycina 32. Wzmocnienie ciśnienia tętna (PPA) w trzech punktach czasowych cyklu miesięczkowego: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), fazie lutealnej (LP). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości  $\pm$  SD.

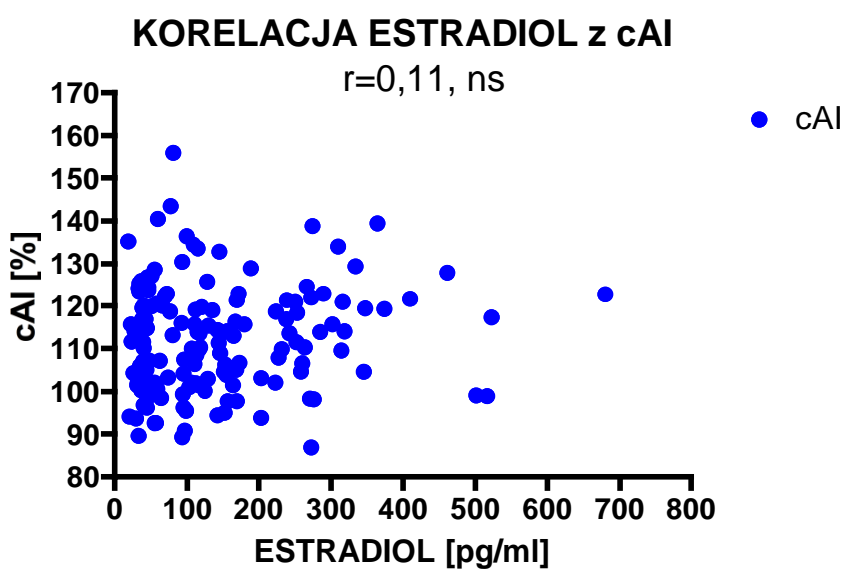
### ***Korelacje stężeń hormonów płciowych z parametrami opisującymi sztywność naczyń***

W celu wyjaśnienia zaobserwowanych różnic w regulacji funkcji układu krążenia w różnych fazach cyklu przeprowadzono analizę korelacji pomiędzy stężeniami hormonów a podstawowymi parametrami opisującymi sztywność naczyń.

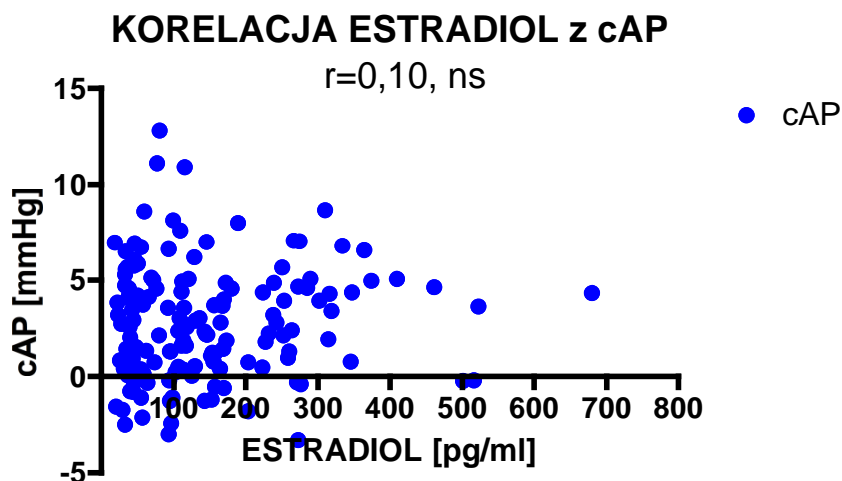
Nie wykazano istnienia korelacji pomiędzy stężeniem estradiolu a wykładnikami sztywności naczyniowej, zarówno w tętnicy promieniowej, jak i w aorcie wstępującej – pAI ( $r=0,11$ ,  $p=ns$ ) (Rycina 33), cAI ( $r=0,11$ ,  $p=ns$ ) (Rycina 34), cAP ( $r=0,10$ ,  $p=ns$ ) (Rycina 35).



Rycina 33. Korelacja stężenia estradiolu z obwodowym wskaźnikiem wzmocnienia (pAI) w trzech punktach cyklu miesięczkowego

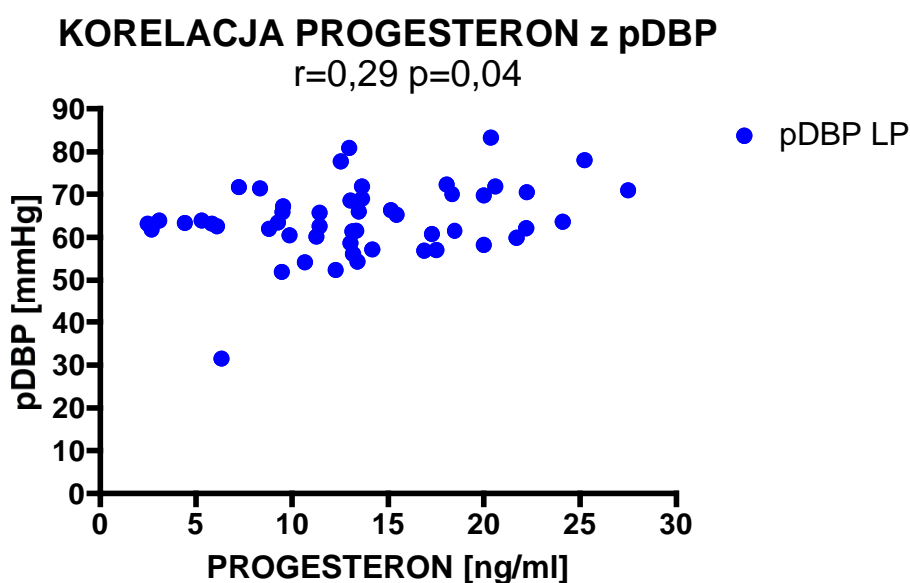


Rycina 34. Korelacja stężenia estradiolu z centralnym wskaźnikiem wzmocnienia (cAI) w trzech punktach cyklu miesięczkowego

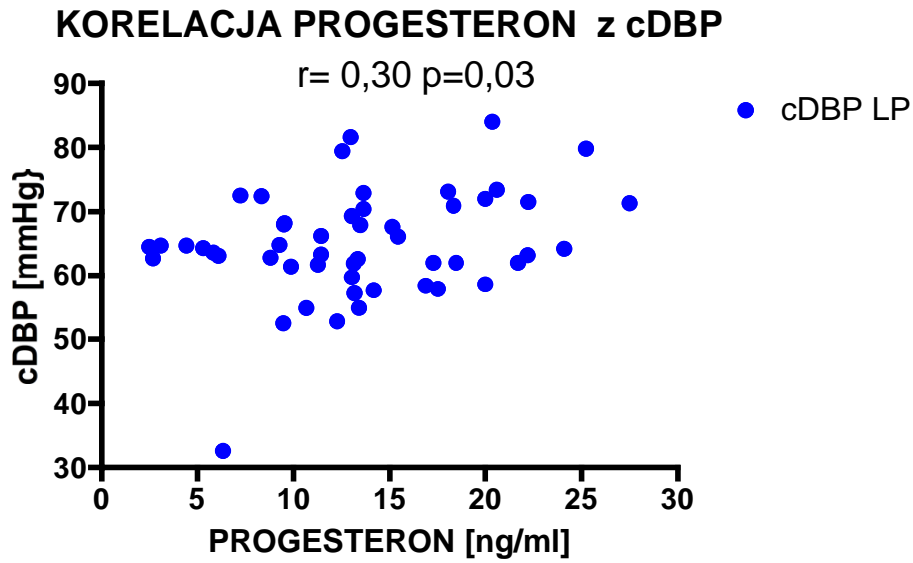


Rycina 35. Korelacja stężenia estradiolu z centralnym ciśnieniem wzmocnienia (cAP) w trzech punktach cyklu miesięczkowego

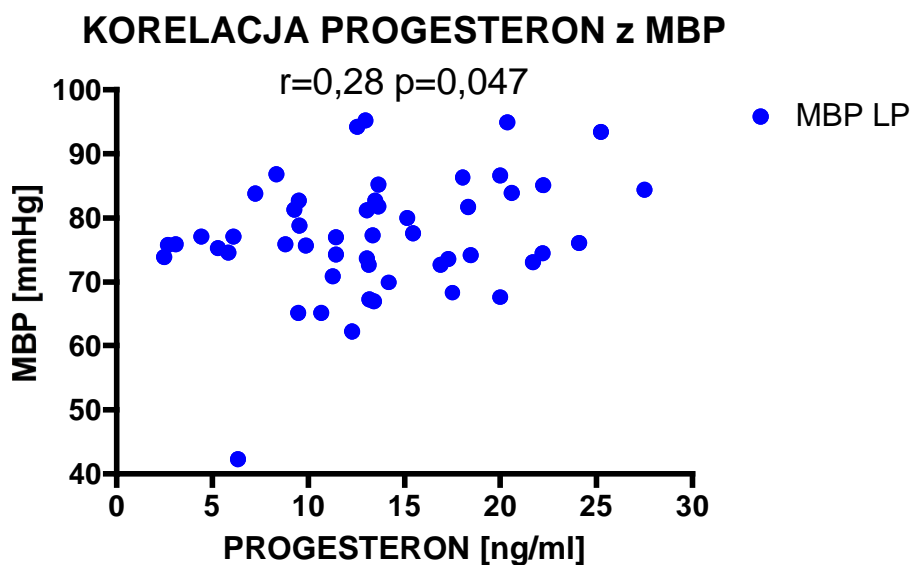
Również stężenia progesteronu w fazie lutealnej nie korelowały w sposób istotny statystycznie z obwodowym ( $r=0,20, p=ns$ ) i centralnym ( $r=0,21, p=ns$ ) indeksem wzmocnienia oraz ciśnieniem wzmocnienia ( $r=0,20, p=ns$ ). Wykazano natomiast istotne korelacje pomiędzy stężeniem progesteronu a ciśnieniem rozkurczowym w tętnicy promieniowej ( $r=0,29, p=0,04$ ) (Rycina 36) i w aorcie wstępującej ( $r=0,30, p=0,03$ ) (Rycina 37), jak również z ciśnieniem średnim ( $r=0,28, p=0,047$ ) (Rycina 38).



Rycina 36. Korelacja stężenia progesteronu w fazie lutealnej z obwodowym ciśnieniem rozkurczowym (pDBP)

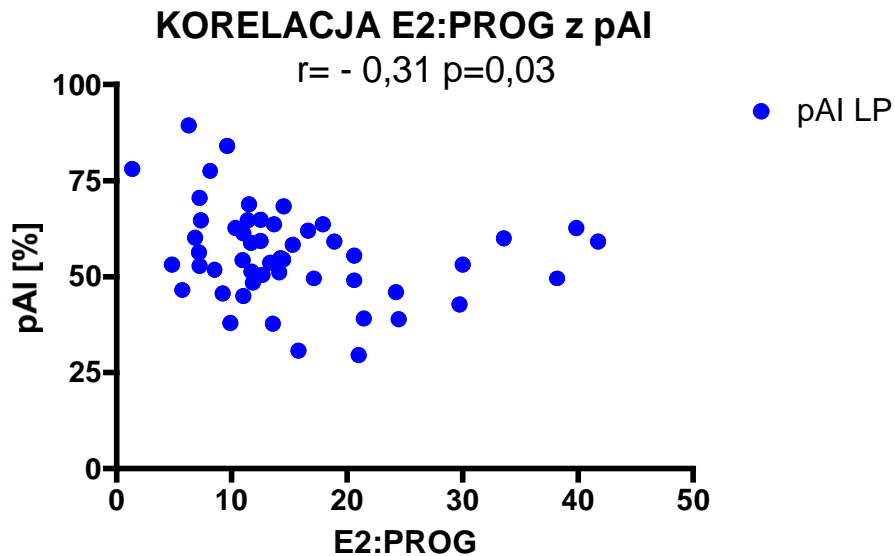


Rycina 37. Korelacja stężenia progesteronu w fazie lutealnej z centralnym ciśnieniem rozkurczowym (cDBP)

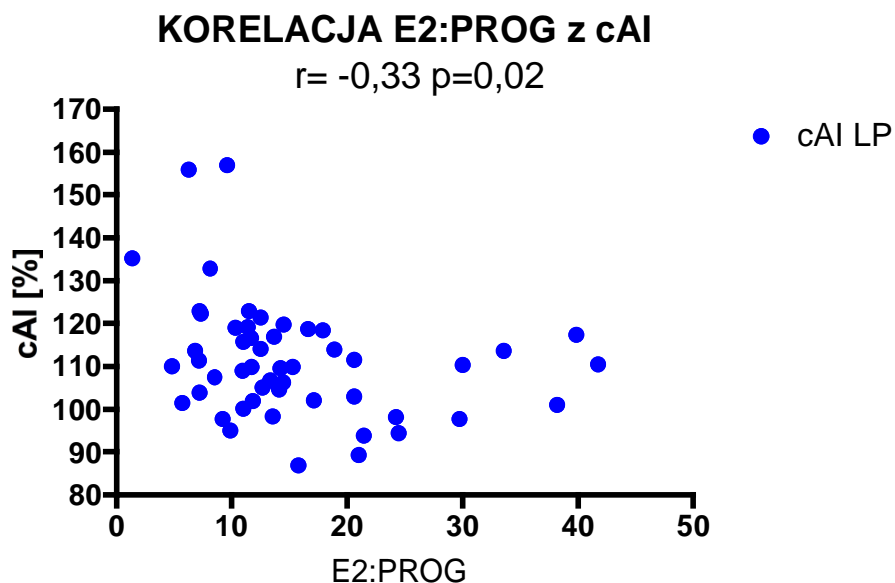


Rycina 38. Korelacja stężenia progesteronu w fazie lutealnej z ciśnieniem średnim (MBP)

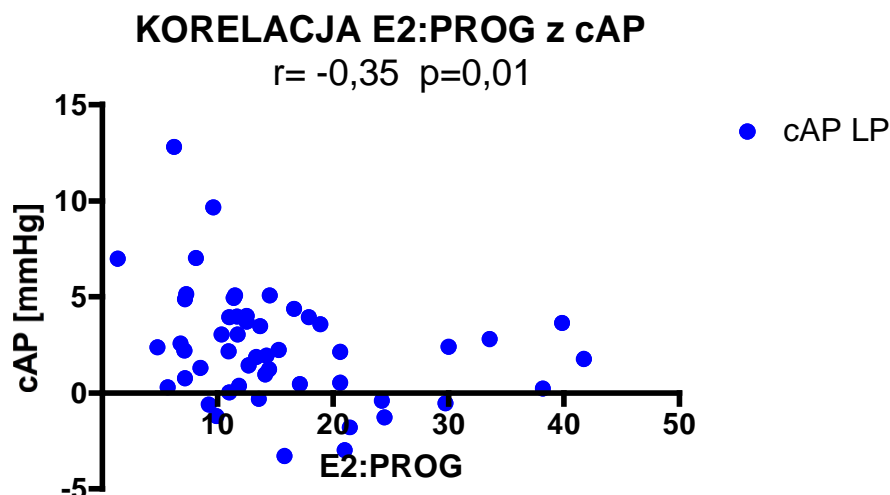
Wykazano również istnienie istotnych odwrotnych korelacji pomiędzy współczynnikiem E2:PROG obrazującym proporcje stężeń wymienionych hormonów w fazie lutealnej i parametrami opisującymi sztywność naczyniową: pAI ( $r = -0,31$ ,  $p = 0,03$ ) (Rycina 39), cAI ( $r = -0,33$ ,  $p = 0,02$ ) (Rycina 40), cAP ( $r = -0,35$ ,  $p = 0,01$ ) (Rycina 41).



Rycina 39. Korelacja stężenia współczynnika E2:PROG w fazie lutealnej z obwodowym wskaźnikiem wzmocnienie (pAI)

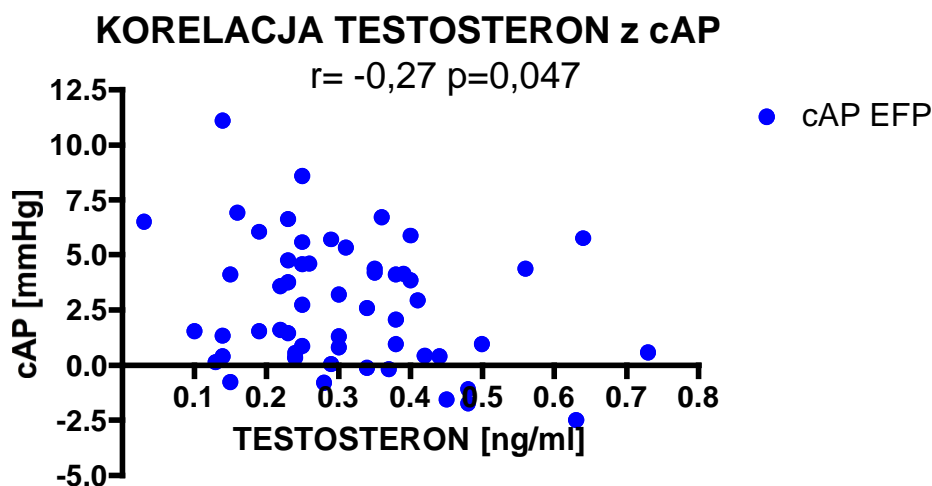


Rycina 40. Korelacja stężenia współczynnika E2:PROG w fazie lutealnej z centralnym wskaźnikiem wzmocnienie (cAI)

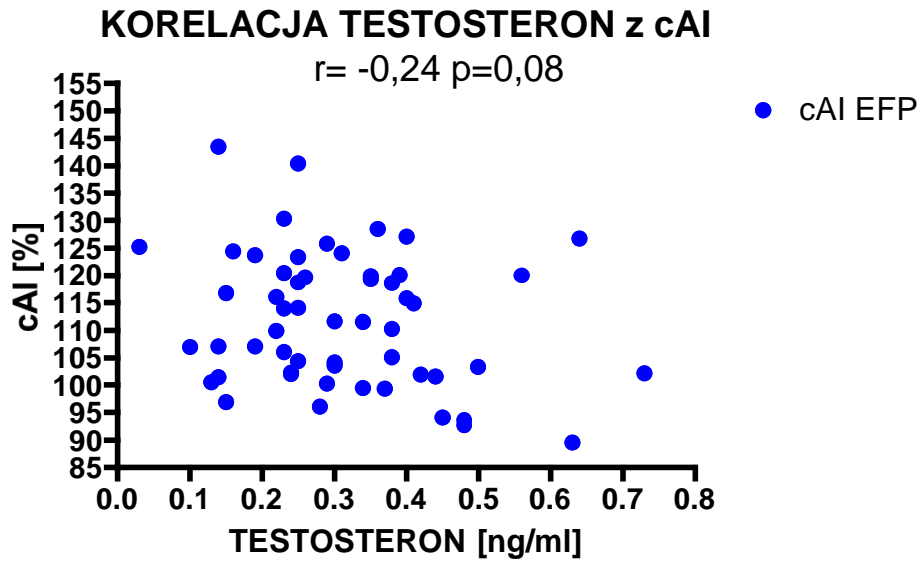


Rycina 41. Korelacja stężenia współczynnika E2:PROG w fazie lutealnej z centralnym ciśnieniem wzmocnienie (cAP)

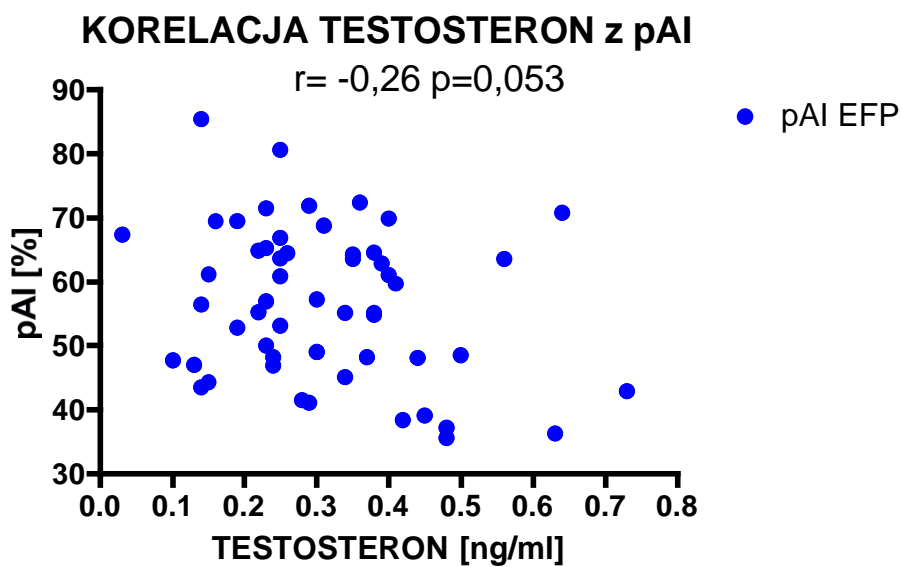
Zaobserwowano istnienie istotnej odwrotnej korelacji testosteronu z centralnym ciśnieniem wzmocnienia ( $r = -0,27$ ,  $p = 0,047$ ) (Rycina 42). Korelacje pomiędzy testosteronem a wskaźnikami wzmocnienia cAI ( $r = -0,24$ ,  $p = 0,08$ ) (Rycina 43) i pAI ( $r = -0,26$ ,  $p = 0,053$ ) (Rycina 44) nie były istotne statystycznie, jednakże wykazywały trend podobny do cAP.



Rycina 42. Korelacja stężenia testosteronu we wczesnej fazie folikularnej z centralnym ciśnieniem wzmocnienia (cAP)

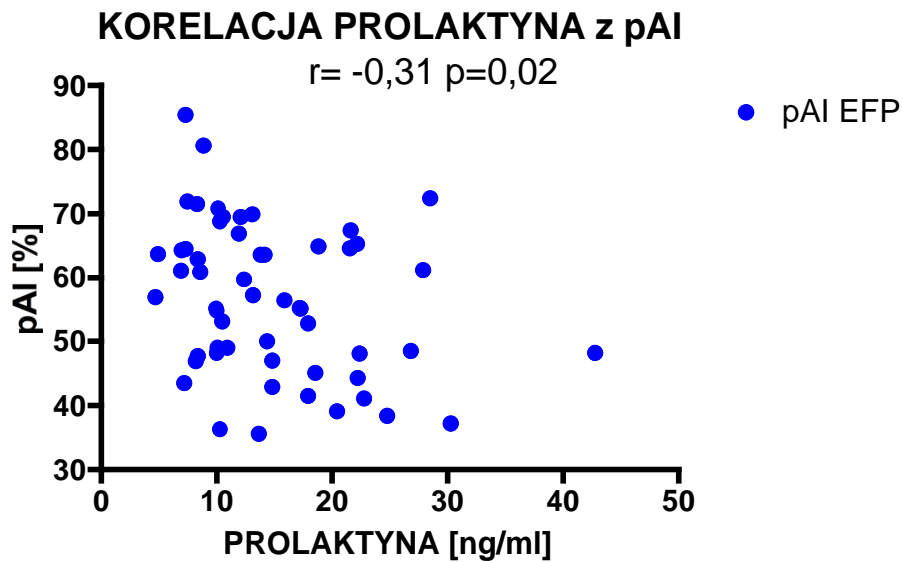


Rycina 43. Korelacja stężenia testosteronu we wczesnej fazie folikularnej z centralnym wskaźnikiem wzmocnienia (cAI)

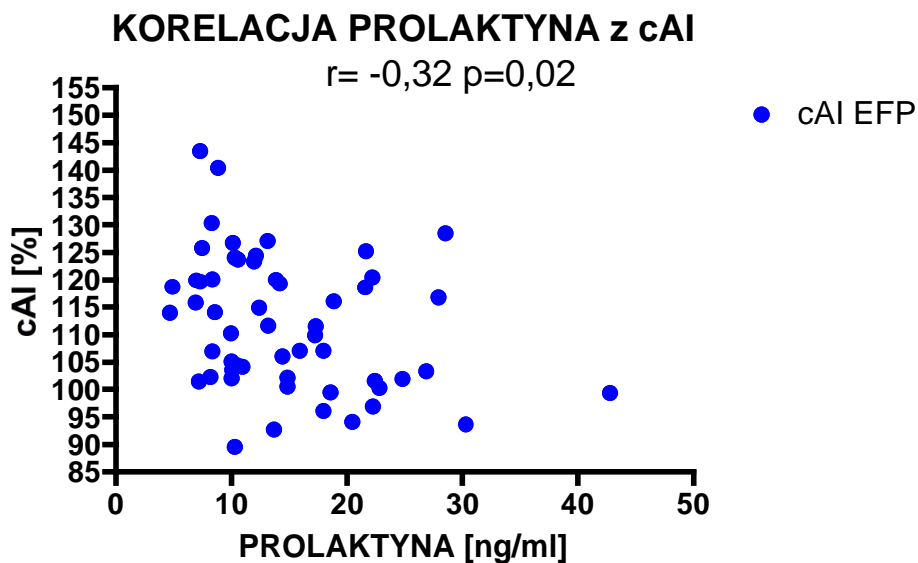


Rycina 44. Korelacja stężenia testosteronu we wczesnej fazie folikularnej z obwodowym indeksem wzmocnienia (pAI)

We wczesnej fazie folikularnej cyklu miesięczkowego zaobserwowano również istotne statystycznie odwrotne korelacje pomiędzy stężeniami prolaktyny a parametrami opisującymi obwodową (PRL : pAI,  $r = -0,31$ ,  $p = 0,02$ ) (Rycina 45) i centralną sztywność naczyniową (PRL : cAI,  $r = -0,32$ ,  $p = 0,02$ , PRL : cAP,  $r = -0,32$ ,  $p = 0,02$ ) (Rycina 46, Rycina 47).

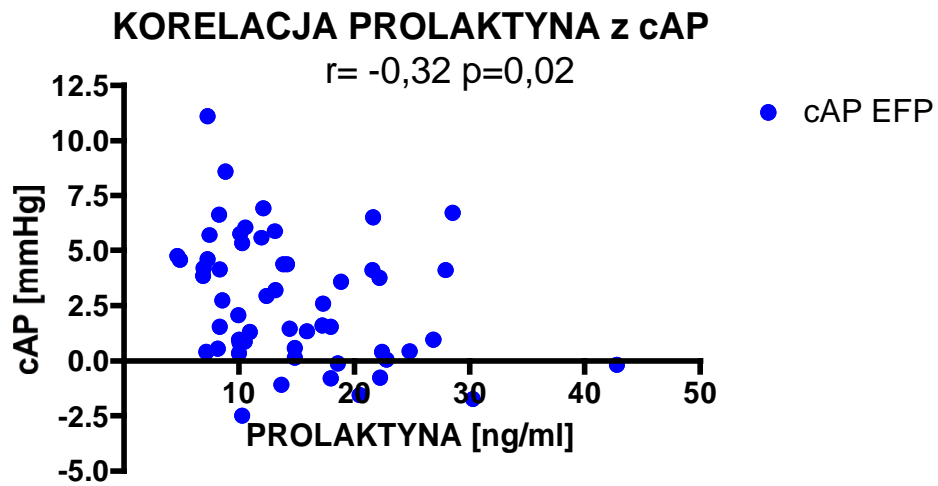


Rycina 45. Korelacja stężenia prolaktyny we wczesnej fazie folikularnej z obwodowym wskaźnikiem wzmocnienia (pAI)



Rycina 46. Korelacja stężenia prolaktyny we wczesnej fazie folikularnej z centralnym wskaźnikiem wzmocnienia (cAI)





Rycina 47. Korelacja stężenia prolaktyny we wczesnej fazie folikularnej z centralnym ciśnieniem wzmacnienia (cAP)

## VII. DYSKUSJA

W uzyskanych wynikach nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic wartości ciśnienia obwodowego (skurczowego, rozkurczowego, średniego i tętna) oraz skurczowego i rozkurczowego ciśnienia centralnego pomiędzy wczesną i późną fazą folikularną oraz fazą lutealną, natomiast centralne ciśnienie tętna było istotnie niższe w środkowej fazie lutealnej w stosunku do późnej fazy folikularnej. Ciekawe wyniki uzyskano dla parametrów opisujących sztywność naczyń. W przebiegu cyklu miesięczkowego zaobserwowano zmiany właściwości mechanicznych naczyń (cAI, pAI i cAP wykazywały najniższe wartości w fazie lutealnej, a najwyższe w późnej fazie folikularnej), co odzwierciedlało zmianę kształtu fali tętna na poziomie dużych tętnic. Stwierdzono występowanie pozytywnych korelacji stężenia progesteronu z centralnym i obwodowym ciśnieniem rozkurczowym i średnim, a także negatywnych korelacji wskaźnika proporcji stężeń estradiolu i progesteronu (E2:PROG) z parametrami sztywności naczyń – cAI, pAI i cAP. Ponadto, zaobserwowano występowanie istotnych, odwrotnych korelacji pomiędzy prolaktyną a cAI, pAI i cAP oraz testosteronem a cAP we wczesnej fazie folikularnej .

Ciśnienie tętnicze oraz sztywność naczyniowa są pozostającymi w ścisłym związku istotnymi czynnikami predykcyjnymi ryzyka powikłań chorób układu sercowo-naczyniowego (64-66). Leżące u podłoża chorób układu krążenia procesy miażdżycowe, prowadzące do zmian struktury i funkcji naczyń tętnicznych, rozpoczynają się już w młodym wieku. Ocena nasilenia wczesnych zmian zachodzących w naczyniach tętnicznych może służyć ustaleniu potencjalnego ryzyka sercowo-naczyniowego u osób, które nie prezentują objawów klinicznych (46). W ostatnim czasie postuluje się, że wartości centralnego ciśnienia tętniczego, mierzonego na poziomie aorty wstępującej, mogą być lepszym i bardziej czułym predyktorem chorób sercowo-naczyniowych niż konwencjonalny pomiar ciśnienia na tętnicy promieniowej (67,68). Dodatkowo, zaobserwowano różnice w regulacji procesów zachodzących w układzie sercowo-naczyniowym w zależności od płci, wskazując na istotny wpływ hormonów płciowych, zwłaszcza estrogenów i progesteronu na strukturę i funkcję naczyń tętnicznych u kobiet (59,69,70).

Wiadomo, że komórki śródbłonna i mięśni gładkich naczyń posiadają receptory zarówno dla estradiolu jak i dla progesteronu (5,71). W badaniach eksperymentalnych i klinicznych udowodniono szeroki wpływ estrogenów na układ krążenia. Potwierdzono ich działanie wazodylatacyjne w mechanizmie stymulacji

komórek śródbłonna i miocytów naczyń do produkcji tlenku azotu i prostacykliny oraz poprzez hamowanie wydzielania endoteliny-1, która jest silnym czynnikiem naczynioskurczowym (5,8-12). Udowodniono również, że estrogeny działają rozszerzająco na tętnice wieńcowe w wyniku blokowania kanałów wapniowych w komórkach mięśni gładkich tych naczyń oraz powodują zwiększenie pojemności minutowej serca i frakcji wyrzutowej lewej komory (5,14,15). Ponadto wykazują hamujące działanie na układ RAA poprzez zmniejszenie ekspresji receptora dla angiotensyny II (16) oraz posiadają działanie przeciwzapalne (17-19). Działanie progesteronu na układ krążenia nie jest w pełni poznane. Duże randomizowane badania u kobiet w wieku pomenopauzalnym sugerowały wzrost ryzyka występowania chorób układu krążenia u pacjentek stosujących gestageny w ramach hormonalnej terapii zastępczej (22,23). Odmienne wyniki pochodzą z niektórych doniesień naukowych, w których postuluje się synergistyczne działanie endogenego progesteronu z estrogenami poprzez obniżenie ciśnienia krwi i działanie wazodylatacyjne związane ze zwiększeniem produkcji NO i blokowanie kanałów wapniowych w komórkach mięśni gładkich naczyń (25-29). Na podstawie przytoczonych danych, świadczących dość jednoznacznie o naczyniorozkurczowym i hipotensyjnym działaniu estrogenów oraz niejednoznacznym działaniu progesteronu można postawić hipotezę, że zmiany stężeń hormonów płciowych zachodzące w przebiegu cyklu miesięczkowego mogą wywierać wpływ na ciśnienie tętnicze i sztywność naczyń. Wiadomo, że najwyższe stężenia estradiolu w czasie cyklu miesięczkowego osiągane są tuż przed owulacją, w późnej fazie folikularnej. Na tej podstawie można by przypuszczać, że właśnie w tym czasie wartości ciśnienia tętniczego i związanych z nim parametrów opisujących sztywność naczyniową powinny osiągać najniższe wartości. W przeprowadzonym badaniu sztywność naczyń ulegała istotnemu obniżeniu w środku fazy lutealnej, kiedy następuje istotny wzrost wydzielania estradiolu (nie osiagając jednakże wartości stwierdzanych w LFP) i dodatkowo progesteronu w wyniku czynności wydzielniczej ciała żółtego.

Mimo dokładnego poznania fizjologii cyklu miesięczkowego i zachodzących podczas niego zmian hormonalnych jak dotąd nie udało się jednoznacznie potwierdzić wpływu hormonów płciowych na zjawiska hemodynamiczne i sztywność naczyń w przebiegu cyklu miesięczkowego. Dotychczasowe nieliczne badania kliniczne przeprowadzane były w małych grupach kobiet i prezentują sprzeczne wyniki.

## ***Parametry hemodynamiczne***

Zmiany wartości obwodowego ciśnienia tętniczego i krzywej fali tętna w trakcie cyklu miesięczkowego mogłyby odzwierciedlać wpływ hormonów płciowych jako czynników zmieniających napięcie tętnic obwodowych. W przeprowadzonym przez Moran badaniu w grupie 26 kobiet wykazano istotny wzrost skurczowego ciśnienia tętniczego w fazie okołowulacyjnej w porównaniu z fazą folikularną (ale nie menstruacyjną) i lutealną, różnice nie dotyczyły jednak ciśnienia rozkurczowego (55). Hipoteza postawiona w pracy, że za wzrost ciśnienia odpowiadały wysokie stężenia estrogenów jako potencjalnych czynników wazokonstrykcyjnych, powodujących wzmocnienie odpowiedzi układu współczulnego oraz wzrost objętości krwi pozostają w sprzeczności z późniejszymi badaniami. Teoria ta nie tłumaczy też braku istotnych różnic pomiędzy fazą okołowulacyjną a menstruacyjną, kiedy to różnice w stężeniach hormonów płciowych są największe. Inni autorzy przedstawiali odmienne wnioski. W pracy Dunne'a (30 kobiet) do największego wzrostu zarówno skurczowego jak i rozkurczowego obwodowego ciśnienia tętniczego dochodziło na początku cyklu (w trakcie menstruacji) w porównaniu z pozostałymi punktami czasowymi i wyższe wartości utrzymywały się podczas całej fazy folikularnej (72). W pracy Krejzy (14 kobiet) zaobserwowano istotny spadek ciśnienia rozkurczowego w środkowej fazie lutealnej w porównaniu z wczesną fazą folikularną, bez istotnych różnic w ciśnieniu skurczowym (73). Wyniki uzyskane przez Hassana (15 kobiet) ukazywały spadek ciśnienia rozkurczowego i średniego w fazie lutealnej cyklu w porównaniu z fazą folikularną i menstruacyjną (74). Podobnie w pracy Chapman wykazano istotnie niższe wartości średniego ciśnienia tętniczego w środkowej fazie lutealnej w porównaniu ze środkową fazą folikularną. Dodatkowo w drugiej fazie cyklu obniżeniu ulegał systemowy opór naczyniowy (obliczony na podstawie wartości średniego ciśnienia i rzutu serca), a podwyższeniu rzut serca, przepływ nerkowy, aktywność reninowa osocza i stężenie aldosteronu w surowicy krwi. Na podstawie otrzymanych wyników wysunięto hipotezę, iż zmiany zachodzące w fazie lutealnej są odpowiednikiem zmian we wczesnej ciąży, a podstawową funkcję regulacyjną stanowi aktywność wydzielnicza ciała żółtego, którego głównym hormonem jest progesteron (56). W nowszym badaniu przeprowadzonym przez Adkissona w grupie 23 kobiet zaobserwowano inny profil zmian ciśnienia obwodowego. Najniższe wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego prezentowane były w późnej fazie folikularnej i były statystycznie istotnie niższe w porównaniu z późną fazą lutealną

oraz wczesną fazą folikularną. Co ciekawe również ciśnienie we wczesnej fazie lutealnej (17-19 d.c.) wykazywało statystycznie istotne niższe wartości w stosunku do wczesnej fazy folikularnej. Wyniki wartości ciśnienia obwodowego uzyskane w pracy Adkissona odzwierciedlały oznaczane jednocześnie w badaniu stężenia estrogenów i NO w organizmie. Wyższe ciśnienie na początku cyklu ulegało spadkowi do minimalnych wartości pod koniec fazy folikularnej synchronicznie ze wzrostem stężenia estradiolu i NO by następnie stopniowo wzrastać w fazie lutealnej wraz ze stopniowym spadkiem stężeń wspomnianych związków. Hipoteza wysunięta w badaniu stanowiła, iż zależny od estrogenów wzrost stężenia i biodostępności NO jest pierwotnym mechanizmem odpowiadającym za zwiększenie reaktywności naczyń tętniczych w późnej fazie folikularnej skutkującym obniżeniem wartości ciśnienia (60).

Mimo wszystko wnioski wysuwane z badań większości autorów wydają się nie potwierdzać istotnej zmienności w parametrach obwodowego ciśnienia tętniczego w trakcie cyklu miesięczkowego. Wyniki wielu prac prowadzonych najczęściej w małych grupach kobiet (9-32 badanych kobiet) nie wykazały istotnych zmian w wartościach obwodowego ciśnienia skurczowego w różnych punktach czasowych cyklu miesięczkowego (57,58,61,62,75-77) i dane te pozostają w zgodności z wynikami przedstawionymi w prezentowanej pracy. Wydaje się, że krótkotrwałe cykliczne zmiany hormonalne zachodzące w cyklu miesięczkowym nie powodują istotnych zmian w obwodowym ciśnieniu tętniczym. Należy pamiętać, iż wartości obwodowego ciśnienia tętniczego charakteryzują się dużą zmiennością populacyjną oraz zależą od bodźców zewnętrznych oraz wpływu różnorodnych czynników wewnątrzustrojowych, które biorą udział w jego regulacji.

Jak wspomniano, ostatnie doniesienia sugerują, iż centralne ciśnienie tętnicze może być lepszym parametrem aniżeli ciśnienie obwodowe w ocenie ryzyka i rokowania w zakresie chorób układu krążenia. W odróżnieniu od ciśnienia rozkurczowego i ciśnienia średniego, które wykazują relatywnie stałe wartości od poziomu aorty po tętnice obwodowe, centralne ciśnienie skurczowe oraz ciśnienie tętna ulegają zjawisku amplifikacji wraz ze wzrostem odległości od serca. Zjawisko to powoduje różnice w wartościach ciśnień obwodowego i centralnego i może być przyczyną osłabienia właściwości predykcyjnych ciśnienia mierzonego na tętnicy promieniowej. Wielkość amplifikacji zależy przede wszystkim od czasu, który upłynął od powstania fali tętna oraz zjawiska odbicia fali i może być modulowana przez różne czynniki, jak: wiek, płeć, wzrost, częstość pracy serca, sztywność naczyniową i

niektóre leki (78). Mimo, że pomiary centralnego ciśnienia tętniczego traktowane są na razie jako pomocnicze i drugorzędne źródło informacji klinicznych, wyniki przeprowadzonych dotychczas dużych badań kohortowych są bardzo obiecujące. Z badań wynika, iż ciśnienie centralne jest niezależnym i silniejszym w porównaniu do ciśnienia obwodowego predyktorem zdarzeń sercowo-naczyniowych zarówno w populacji osób bez objawów klinicznych (79,80), jak również chorych na nadciśnienie tętnicze (67), chorobę wieńcową (81) i niewydolność nerek (82).

Rozwój nieinwazyjnych metod oceny centralnego ciśnienia tętniczego pozwolił na szersze zastosowanie tego rodzaju pomiarów w badaniach naukowych. Pojawiły się także, choć nieliczne, publikacje oceniające zmienność ciśnienia centralnego w trakcie cyklu miesięczkowego. W badaniach Adkissona pomiary centralnego ciśnienia tętniczego metodą tonometrii aplanacyjnej kształtowały się podobnie do wyników dotyczących ciśnienia obwodowego. Ponownie uzyskano najniższe wartości ciśnienia skurczowego w późnej fazie folikularnej, różniące się istotnie od pozostałych faz cyklu, przy czym pozostałe fazy nie wykazywały zmienności cSP pomiędzy sobą. Również ciśnienie rozkurczowe uzyskało najniższe wartości w późnej fazie folikularnej w porównaniu z pozostałymi okresami cyklu, w tym przypadku jednak zachowana została zmienność pomiędzy wczesną fazą folikularną a wczesną fazą lutealną, w której było istotnie niższe (60). Uzyskana zgodność wyników dla parametrów centralnych i obwodowych różnicy ciśnienia tętniczego pomiędzy fazami cyklu oraz odpowiadające im zmiany stężenia estradiolu i NO umocniły sugerowaną hipotezę dotyczącą nadrzędnego wpływu wspomnianych związków na zmiany ciśnienia. Analogicznie do wyników dotyczących ciśnienia obwodowego, ciśnienie centralne w wynikach prac większości autorów nie wykazywało istotnych różnic pomiędzy fazami cyklu (58,61,62). W prezentowane pracy średnie wartości centralnego ciśnienia skurczowego, rozkurczowego i średniego nie różniły się istotnie statystycznie pomiędzy punktami czasowymi cyklu miesięczkowego; wykazano jednakże istotne różnice pomiędzy ciśnieniem tętna w późnej fazie folikularnej i fazie lutealnej, w czasie której było niższe. PP jak wspomniano powyżej jest parametrem ulegającym istotnym zmianom w zależności od odległości od serca ze względu na zjawisko amplifikacji, a jego wartości centralne prawdopodobnie lepiej odzwierciedlają warunki hemodynamiczne panujące w ustroju. Mając również na uwadze różnice w budowie ściany tętnic w zależności od wielkości naczynia na podstawie uzyskanych wyników można wysunąć hipotezę, że

zmiany stężeń hormonów płciowych zachodzące w cyklu miesięczkowym wpływają na regulację właściwości mechanicznych dużych tętnic sprężystych.

### ***Parametry opisujące sztywność naczyniową oraz falę tętna***

Centralny i obwodowy indeks wzmocnienia oraz ciśnienie wzmocnienia są podstawowymi parametrami opisującymi sztywność naczyń tętniczych na podstawie analizy fali tętna. Sztywność naczyniowa jest zasadniczą determinantą wpływającą na ciśnienie centralne oraz niezależnym czynnikiem predykcyjnym incydentów sercowo-naczyniowych (83). Podobnie jak w przypadku ciśnienia centralnego jak dotąd brak jest wiarygodnych danych dotyczących wpływu zmian hormonalnych w czasie cyklu miesięczkowego na sztywność naczyń, a dostępne piśmiennictwo dostarcza sprzeczne wyniki. W prezentowanych w pracy wynikach badań wykazano istotne statystycznie różnice w wartościach parametrów opisujących sztywność naczyniową w różnych punktach czasowych cyklu miesięczkowego. Centralny i obwodowy AI oraz cAP uzyskały najniższe wartości w środkowej fazie lutealnej i były istotnie statystycznie niższe od parametrów ocenianych w późnej fazie folikularnej (a dla cAI także we wczesnej fazie folikularnej), co korespondowało ze wspomnianym wcześniej obniżeniem cPP w II fazie cyklu. Uzyskane wyniki były zgodne z wynikami Robb, w których stwierdzono istotne statystycznie różnice wartości cAI w przebiegu cyklu miesięczkowego, notując 65% spadek wartości w fazie lutealnej (pomiar pomiędzy 20 a 22 dniem cyklu) w porównaniu z fazą okołooowulacyjną (13-15 dc). Na uwagę zasługuje także podobieństwo badanych punktów czasowych w obydwu badaniach oraz metodyki z zastosowaniem tonometrii aplanacyjnej i oceny fali tętna aortalnego za pomocą funkcji transferowej (59). Pozostałe, wcześniejsze badania demonstrowały brak zmian w sztywności naczyń w przebiegu cyklu miesięczkowego, opcjonalnie wzrost podatności naczyniowej (zmniejszenie sztywności) w fazie okołooowulacyjnej w porównaniu z wczesną fazą folikularną i fazą lutealną, a więc wyniki przeciwstawne do uzyskanych w niniejszym badaniu.

W badaniu Papaioannou przeprowadzonym w najliczniejszej jak dotąd grupie pacjentek (n=32), nie wykazano żadnych istotnych różnic porównując wartości cAI, cAP oraz Tr (61). Zbliżone wyniki wskazujące na brak różnic w parametrach opisujących sztywność naczyniową uzyskano w badaniu Ounis-Skali, w którym porównywano centralny indeks wzmocnienia (tonometria tętnicy szyjnej), a także

prędkość fali tętna na odcinku szyjno-promieniowym i szyjno-udowym. We wspomnianym badaniu uzyskano różnice w czasie wyrzutu, który okazał się być istotnie krótszy w fazie lutealnej cyklu. Autorzy sugerowali, iż skrócenie ED w fazie lutealnej wynika z aktywacji układu RAA i jego właściwości wazokonstrykcyjnych regulowanych przez zwiększenie stężenia progesteronu w drugiej fazie cyklu. Należy zwrócić uwagę, że w badaniu Ounis-Skali porównywano jedynie dwa punkty czasowe w cyklu miesięcznym, tj. wczesną fazę folikularną i wczesną fazę lutealną. Wynikający z tego faktu brak informacji na temat zmian sztywności naczyń w okresie okołowulacyjnym (kiedy zmiany stężenia hormonów płciowych są najwyższe) utrudnia jednoznaczną interpretację wyników (62). W pracy Adkissona, w której badane parametry oceniane były we wczesnej (2-4 dc) i późnej (12-14 dc) fazie folikularnej oraz wczesnej (17-19 dc) i późnej (25-28 dc) fazie lutealnej zaobserwowano istotny spadek cAI w późnej fazie folikularnej w porównaniu z początkiem cyklu. Niskie wartości cAI wzrastały stopniowo we wczesnej a następnie późnej fazie lutealnej wracając do maksymalnych wartości na początku cyklu. Analogicznie Tr wydłużał się w późnej fazie folikularnej, nie wykazano jednakże istotnych zmian w zakresie centralnej i obwodowej PWV. Na podstawie wyników badanych parametrów Adkisson postawił ciekawą hipotezę, że parametry opisujące obwodowe i centralne ciśnienie tętnicze oraz sztywność naczyniową ulegają obniżeniu podczas późnej fazy folikularnej a następnie w trakcie fazy lutealnej stopniowo powracają do wartości bazowych. Autorzy hipotetyzowali, że pierwotnym mechanizmem odpowiedzialnym za wspomniane zmiany jest modulowany przez poziom estrogenów wzrost stężenia i biodostępności NO. Fakt ten wg autorów może mieć także dalsze implikacje związane ze zdrowiem reprodukcyjnym kobiety. Poprawa właściwości hemodynamicznych układu krążenia w okresie okołowulacyjnym może mieć udział w zapewnieniu optymalnego środowiska dla receptywności endometrium i implantacji zarodka. Z drugiej strony to właśnie rozrost naczyń endometrium może stanowić jeden z mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany hemodynamiczne w trakcie cyklu miesięcznego (60). Autorzy popierają swoją tezę wynikami wartości stężeń estradiolu i NO, które rosną znacząco w późnej fazie folikularnej, nie podają jednak informacji o występowaniu istotnych korelacji pomiędzy zmiennymi hemodynamicznymi i hormonalnymi. Brak takich korelacji mógłby świadczyć o tym, iż mechanizmy regulujące parametry hemodynamiczne są bardziej złożone a działanie estrogenów jest tylko jednym z wielu czynników, które powinny być brane pod uwagę.



Inną metodę oceniającą sztywność naczyń w czasie cyklu miesięczkowego posłużył się Hayashi. Na podstawie pomiarów ultrasonograficznych światła tętnicy szyjnej wspólnej oraz przeprowadzonych na tym samym poziomie pomiarów ciśnień metodą tonometryczną oceniono podatność tętnic (58). Jest to pojęcie określające zdolność naczynia do skurczu i rozkurczu w zależności od zmian ciśnienia tętniczego, oceniające właściwości sprężyste naczyń i będące przeciwstawnym do sztywności naczyniowej. Wyniki Hayashiego, który porównywał podatność naczyń w pięciu punktach czasowych cyklu (fazie menstruacyjnej, folikularnej, owulacyjnej, wczesnej lutealnej i późnej lutealnej) wskazywały na istotny wzrost tego parametru od początku cyklu do fazy owulacyjnej, a następnie gwałtowny spadek we wczesnej i późnej fazie lutealnej. Także w tym przypadku autorzy badania tłumaczyli wzrost podatności naczyniowej w fazie owulacyjnej stopniowym wzrostem stężenia estradiolu od początku cyklu i związanym z nim działaniem wazodylatacyjnym i antyaterogennym (58). Nagłe zmniejszenie podatności występujące w drugiej fazie cyklu nie udaje się jednak wytłumaczyć spadkiem stężenia estradiolu, którego poziomy długo jeszcze pozostają wysokie. Podatność tętnic była oceniana również w badaniu Williamsa, gdzie analizowano zmiany podatności dotyczące całego układu tętniczego, tzn. jednocześnie tętnic centralnych i obwodowych. Wyniki wykazały wzrost podatności tętnic od początku cyklu do późnej fazy folikularnej a następnie spadek po owulacji, co pozostaje w zgodności z badaniem Hayashiego. Nie odnotowano zmian w PWV (57). Podobne wyniki uzyskano w pracy Giannattasio, w której porównywano pochodną podatności naczyniowej - „rozciągliwość” (*distensibility*) tętnicy promieniowej w trzech punktach cyklu miesięczkowego. Uzyskano profil zmian charakteryzujący się wzrostem w fazie owulacyjnej oraz spadkiem w fazie lutealnej badanego parametru. Na uwagę zasługuje fakt, że pomiary w fazie lutealnej prowadzone były pomiędzy 21 a 29 dniem cyklu (czyli stosunkowo późno), co mogło wiązać się z niższymi stężeniami zarówno estradiolu jak i progesteronu (77). W badaniu, przeprowadzonym przez Willekes nie potwierdzono występowania jakichkolwiek zmian dotyczących podatności zarówno tętnicy szyjnej wspólnej jak i tętnicy udowej (84).

Dotychczasowe badania oceniające zmienność parametrów hemodynamicznych i sztywności naczyniowej w przebiegu cyklu miesięczkowego u młodych, zdrowych kobiet dostarczały sprzecznych wniosków. Uzyskane wyniki wskazywały na wzrost (57,58,60,77), spadek (59) ocenianych parametrów w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego, lub całkowity brak zmienności w ich zakresie (61,62,84). Istnieje

wiele czynników mogących tłumaczyć tak znaczne rozbieżności. Przede wszystkim należy zwrócić uwagę na małe grupy badane liczące od 10 do 32 kobiet, przy czym tylko w trzech przypadkach liczebność grupy przekraczała 20, co powoduje wątpliwości co do reprezentatywności wyników i nie umożliwia otrzymania rozkładu zmiennych zbliżonego do normalnego. Ważnym elementem wpływającym na różnice w uzyskanych wynikach mogą być różnice w metodologii badawczej. Parametry opisujące centralną sztywność i ciśnienie tętnicze oceniane były na poziomie aorty wstępującej ale też tętnicy szyjnej wspólnej. Ocenie podlegały klasyczne parametry opisujące sztywność naczyń jak pAI, cAI, ale również podatność i rozciągliwość naczyń tętniczych, a do pomiarów stosowano metody tonometrii aplanacyjnej, manometryczne, fotopletyzmograficzne i ultrasonograficzne. Oznaczenia badanych parametrów przeprowadzane były w różnych punktach czasowych cyklu miesięczkowego (od 2 do 5 pomiarów).

Przeprowadzone badania własne wśród 55 kobiet, stanowią największą grupę w dostępnym piśmiennictwie. Grupa ta została dobrze scharakteryzowana. Prawidłowy, owulacyjny cykl miesięczkowy każdorazowo został potwierdzony zarówno badaniem ultrasonograficznym, jak i na podstawie zmian stężeń hormonów płciowych. Dokładnie stwierdzono monofolikularny wzrost i korelację podwyższenia stężenia estradiolu z obecnością pęcherzyka dominującego w jajniku. Potwierdzenie ultrasonograficzne odbytej owulacji poprzez uwidocznienie ciała żółtego w jajniku w trakcie fazy lutealnej pozwoliło wykluczyć wystąpienie zespołu luteinizacji niepękniętego pęcherzyka jajnikowego – LUF. Z zaobserwowanymi ultrasonograficznie zmianami przebiegającymi w jajniku w trakcie cyklu miesięczkowego korespondował również stopniowy wzrost grubości endometrium. Dodatkowo wnikliwie przeprowadzone badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz szeroki profil badań hormonalnych i biochemicznych pozwoliły wykluczyć występowanie wszystkich endokrynopatii, włącznie z zaburzeniami gospodarki lipidowej, węglowodanowej i insulinooporności. Punkty czasowe, w których dokonywano pomiarów dobrane zostały w taki sposób aby reprezentować te okresy w trakcie cyklu miesięczkowego, które reprezentują maksymalne zmiany stężeń badanych hormonów płciowych. Zastosowana w badaniu metoda - tonometria aplanacyjna uznana jest obecnie za złoty standard w nieinwazyjnej ocenie centralnych parametrów hemodynamicznych i analizy fali tętna centralnego.

W przedstawionym badaniu uzyskano wyniki świadczące o obniżeniu wartości parametrów opisujących sztywność naczyniową w środkowej fazie lutealnej cyklu

miesiączkowego w porównaniu z późną fazą folikularną. Różnice dotyczyły zarówno parametrów opisujących falę tętna centralnego – cPP, cAI, cAP, jak i obwodowego wskaźnika wzmocnienia – pAI. Uzyskane wyniki mogą wiązać się z charakterystycznymi dla środkowej fazy lutealnej wysokimi stężeniami w surowicy krwi zarówno estradiolu o udowodnionym wazodylatacyjnym efekcie biologicznym, jak i progesteronu, który potencjalnie może ten efekt nasilać. Nie można wykluczyć bezpośredniego lub pośredniego udziału NO w obserwowanym zjawisku.

### ***Korelacje stężeń hormonów płciowych z parametrami opisującymi sztywność naczyń***

Badanie istnienia korelacji estradiolu i progesteronu z parametrami opisującymi ciśnienie i sztywność naczyń nie przyniosły jednoznacznych wniosków. Stwierdzono istnienie pozytywnych istotnych korelacji progesteronu z ciśnieniem rozkurczowym i ciśnieniem średnim w tętnicy promieniowej i aorcie wstępującej w środkowej fazie lutealnej. Wyniki te wskazywałyby na to, że wysokie stężenia progesteronu powodują wzrost wartości tych parametrów. Żadne z dotychczas przeprowadzonych badań nie donosiło o występowaniu istotnych korelacji dla stężeń pojedynczych hormonów, estradiolu i progesteronu z wartościami ciśnienia i parametrami opisującymi sztywność naczyniową. Inna sytuacja dotyczy występowania korelacji zmiennych hemodynamicznych ze współczynnikiem estradiol:progesteron, obrazującym proporcje pomiędzy stężeniami wspomnianych hormonów. W przedstawionych w rozprawie badaniach własnych zaobserwowano występowanie istotnych negatywnych korelacji współczynnika estradiol:progesteron z pAI, cAI i cAP w środkowej fazie lutealnej. Analogiczne wyniki uzyskał w swoim badaniu Hayashi stwierdzając istotne pozytywne korelacje współczynnika z podatnością naczyń (58). Przedstawione dane mogą świadczyć o tym, że większe znaczenie w regulacji funkcji układu krążenia odgrywają proporcje wydzielanych hormonów płciowych niż ich bezwzględne wartości. Wartościowa w analizie wpływu poszczególnych hormonów płciowych i ich proporcji na badane parametry hemodynamiczne byłaby ocena występowania takich związków w przebiegu całego cyklu miesiączkowego, tj. także we wczesnej i późnej fazie folikularnej. W przeprowadzonym badaniu nie oznaczono stężeń progesteronu przed owulacją z uwagi na jego bardzo niskie wartości w fazie folikularnej (20-100 krotnie niższe niż w środku fazy lutealnej) co stanowi pewne

ograniczenie, ponieważ nawet mały zakres zmienności stężenia progesteronu może wywołać pewien efekt hemodynamiczny.

Mechanizmy regulujące sztywność naczyniową w przebiegu cyklu miesięczkowego są bardzo złożone. Oprócz naturalnego działania estrogenów i progesteronu, na strukturę i funkcję naczyń krwionośnych mają wpływ takie czynniki jak układ RAA czy endotelina-1, które również wykazują cykliczne wahania w trakcie cyklu miesięczkowego. Wzajemne zależności wymienionych układów są również bardzo złożone. Wiadomo, że estrogeny biorą udział w regulacji funkcji układu RAA i potwierdzono występowanie wysokich stężeń hormonów RAA w czasie fazy lutealnej cyklu. Zjawisko to nie jest jednak jednoznaczne ze zwiększoną aktywnością układu na poziomie narządów docelowych w drugiej fazie cyklu, a wyniki niektórych prac sugerują występowanie zjawiska „*downregulation*” czyli osłabienie działania dotyczące odpowiedzi tkankowej na układ RAA, regulowanego przez estrogeny (16,85). Istnieją również doniesienia o regulacyjnym wpływie estrogenów na wydzielanie endoteliny-1, będącej silnym wazokonstryktorem, której stężenie we wczesnej fazie folikularnej, cechującej się niskim poziomem estradiolu było istotnie wyższe niż w pozostałych fazach cyklu (11,12,86). Innymi badanymi czynnikami regulującymi właściwości naczyń w trakcie cyklu miesięczkowego są wspomniane już NO i syntaza NO (13,87), a także metabolity prostaglandyn (88), integryny (V-CAM-1, I-CAM-1, E-selektyna) (89), P-selektyna (90), czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor, VEGF) (91), i homocysteina (92).

Dodatkowym dowodem na wpływ zmian hormonalnych zachodzących w czasie cyklu miesięczkowego na układ krążenia jest stwierdzenie wyższego ryzyka zachorowań na choroby sercowo-naczyniowe u kobiet z nieregularnymi miesiączkami, brakiem miesiączki i zespołem policystycznych jajników. We wszystkich tych przypadkach dochodzi do zaburzenia występowania cyklicznych zmian hormonalnych, rzadkich lub braku owulacji i związanym z tym brakiem fizjologicznego wzrostu wydzielania estradiolu i progesteronu (93-95).

W przeprowadzonym badaniu uzyskano negatywną istotną korelację stężenia testosteronu z cAP i podobne, choć statystycznie nieistotne trendy dla cAI i pAI we wczesnej fazie folikularnej. Wyniki te mogą przyczynić się do poparcia tezy o pozytywnym wpływie testosteronu na układ sercowo-naczyniowy, postulowanej przez niektóre badania eksperymentalne (34,35). Wspomniany wzrost ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w zespołach hiperandrogenizacji, jak PCOS może być związany z hiperinsulinemią, zaburzeniami lipidowymi, brakiem owulacji a

niekoniecznie zwiększonym stężeniem testosteronu w surowicy krwi. Możliwe jest również negatywne działanie androgenów jedynie w przypadku przekroczenia prawidłowych wartości referencyjnych przy braku takiego efektu gdy stężenia hormonu znajdują się w zakresie normy. Postawienie jednoznacznych wniosków dotyczących wpływu androgenów na układ krążenia wymaga dalszych badań eksperymentalnych i klinicznych.

Kolejne korelacje scharakteryzowane w przeprowadzonym badaniu dotyczą stężenia prolaktyny i parametrów sztywności naczyniowej. Zarówno cAP, cAI jak i pAI zmniejszały się proporcjonalnie wraz ze wzrostem poziomu prolaktyny w surowicy krwi. Tego typu obserwacji nie znaleziono w dostępnej literaturze. Dotychczasowe publikacje dostarczały dowodów na negatywne działanie prolaktyny na układ sercowo-naczyniowy. W badaniach laboratoryjnych lub klinicznych postulowano: wazokonstrykcyjny efekt prolaktyny związany z blokowaniem receptorów  $\beta_2$ -adrenergicznych i hamowaniem działania syntazy tlenku azotu (96-98), działanie prolaktyny stymulujące adhezję komórek jednojądrowych do komórek śródbłonna i proliferację komórek mięśni gładkich naczyń (16,98-102), udział w patogenezie poporodowej kardiomiopatii (103) oraz nadciśnienia ciążowego (104), powodowanie zaburzeń rytmu serca (105), a także negatywny efekt na ciśnienie tętnicze i sztywność naczyniową (106). Doniesienia te pozostają w sprzeczności z wynikami własnymi, gdyż negatywne istotne korelacje prolaktyny z parametrami opisującymi sztywność naczyń mogą świadczyć o pozytywnym działaniu prolaktyny na właściwości sprężyste naczyń. Ciekawą obserwacją w dotychczasowych badaniach nad wpływem prolaktyny na układ krążenia jest stwierdzenie jej dwójakiego efektu na angiogenezę. Udowodniono, że cząsteczka prolaktyny pełnej długości 23 kDa wykazuje działanie proangiogenne i kardioprotekcyjne w odróżnieniu od swojej krótszej formy 16 kDa powstałej w wyniku działania proteazy katepsyny D, która posiada właściwości antyangiogenne i proapoptotyczne i stanowi potencjalny czynnik ryzyka poporodowej kardiomiopatii (103,107). Wydaje się, że wysunięcie jednoznacznych wniosków w zakresie wpływu prolaktyny na układ krążenia wymaga dalszych badań klinicznych.

Wyniki przedstawionej pracy sugerują występowanie zmian wartości parametrów opisujących sztywność naczyniową i falę tętna w przebiegu cyklu miesięczkowego. Potwierdzają jednocześnie tezę o znaczącym wpływie hormonów płciowych i ich cyklicznych zmian na układ krążenia. Interpretacja wyników badania pozwala stwierdzić, że środkowa faza lutealna cyklu cechuje się najkorzystniejszym profilem

właściwości sprężystych naczyń i centralnego ciśnienia tętniczego. Pomimo, iż fizjologiczne mechanizmy leżące u podstawy tego zjawiska nie zostały do końca wyjaśnione, a złożone relacje czynników kontrolujących procesy hemodynamiczne oraz napięcie naczyniowe wymagają dalszych badań wydaje się, że istotny protekcyjny wpływ na układ krążenia w drugiej fazie cyklu wywierają synergistycznie estradiol i progesteron oraz ich prawidłowe proporcje.

Wyniki badania wskazujące na różnice właściwości mechanicznych dużych tętnic i kształtu fali tętna w zależności od fazy cyklu miesięczkowego mogą mieć istotne znaczenie kliniczne. Wczesna identyfikacja kobiet o niekorzystnym profilu ryzyka chorób sercowo-naczyniowych związanym między innymi ze zwiększeniem sztywności naczyniowej umożliwia wcześniejsze objęcie chorych szeroko pojętymi działaniami profilaktycznymi obejmującymi modyfikację stylu życia i zainicjowanie leczenia. Tworzenie modelu predykcyjnego identyfikującego kobiety z podwyższonym ryzykiem zachorowania na choroby układu krążenia wymaga wyjaśnienia czy faza cyklu miesięczkowego ma wpływ na obserwowane zjawiska hemodynamiczne.

Wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że faza cyklu miesięczkowego powinna być brana pod uwagę przy interpretacji oceny ryzyka sercowo-naczyniowego w populacji zdrowych regularnie miesiączkujących kobiet. Istnienie opisywanej zmienności parametrów hemodynamicznych może być także powodem do standaryzacji czasu wykonywania testów kardiologicznych u kobiet w wieku rozrodczym.

Przeprowadzone badanie cechują pewne ograniczenia. Do oceny parametrów sztywności naczyniowej i centralnego ciśnienia tętniczego zastosowano pośrednie metody diagnostyczne. W związku z tym należy wziąć pod uwagę, iż otrzymane wyniki mogą niedokładnie odzwierciedlać zmiany, które byłyby uzyskane w przypadku zastosowania metod bezpośrednich. Może mieć to istotne znaczenie w przypadku zmiennych które różniły się istotnie statystycznie w różnych fazach cyklu miesięczkowego, ale zakres tych różnic był niewielki. Innym ograniczeniem badania może być zbyt mała liczebność grupy badanej ( $n=55$ ), należy jednak pamiętać, iż jest to największa populacja opisana w dostępnym piśmiennictwie.

## VIII. WNIOSKI

1. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że w grupie młodych, zdrowych, regularnie miesiączkujących kobiet w przebiegu cyklu miesiączkowego dochodzi do zmiany właściwości mechanicznych dużych tętnic co znajduje swoje odzwierciedlenie w zmianie kształtu centralnej fali tętna.
2. Nie stwierdzono występowania zależności parametrów obwodowego ciśnienia tętniczego od fazy cyklu miesiączkowego u zdrowych regularnie miesiączkujących kobiet.
3. Testosteron, prolaktyna oraz stosunek estradiol:progesteron odgrywają znaczącą rolę w regulacji zmienności sztywności naczyniowej i ciśnienia tętniczego w przebiegu cyklu miesiączkowego.
4. Wobec występowania istotnych, jednakże stosunkowo małych różnic w wartościach parametrów hemodynamicznych w przebiegu cyklu miesiączkowego, można rozważyć uwzględnienie fazy cyklu w czasie wykonywania testów kardiologicznych u kobiet w wieku rozrodczym.

## IX. STRESZCZENIE

*Wstęp:* Choroby układu krążenia są najczęstszą przyczyną zgonów na świecie wśród mężczyzn i kobiet. Ryzyko zachorowania i zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych w populacji kobiecej w istotny sposób zwiększa się po menopauzie, jednakże subtelne nieprawidłowości strukturalne i czynnościowe w układzie krążenia, niezależne od klasycznych czynników ryzyka można wykryć już u młodych kobiet w wieku rozrodczym. Zasadniczą rolę w patogenezie tych zmian wydają się odgrywać zaburzenia elastyczności naczyń tętniczych i czynniki związane z jej regulacją. Informacje na temat występowania lub braku występowania różnic w zakresie parametrów opisujących sztywność naczyniową i ciśnienia krwi w czasie cyklu miesięczkowego mogą mieć znaczący wpływ na wykonywanie i interpretację wyników diagnostycznych testów kardiologicznych. Pomimo, iż zmiany hormonalne zachodzące w przebiegu cyklu miesięczkowego zostały bardzo dobrze poznane, wpływ poszczególnych hormonów i ich cyklicznej zmienności na układ krążenia pozostaje niejednoznaczny.

Celem pracy była ocena parametrów hemodynamicznych oraz właściwości mechanicznych naczyń tętniczych w trzech charakterystycznych punktach czasowych cyklu miesięczkowego u zdrowych, regularnie miesiączkujących kobiet w wieku rozrodczym, tj. we: wczesnej fazie folikularnej (EFP), późnej fazie folikularnej (LFP), środkowej fazie lutealnej (LP). Cel ten realizowany był poprzez: (1) ocenę ciśnienia skurczowego, rozkurczowego, średniego i ciśnienia tętna w tętnicy promieniowej i aortie wstępującej, (2) ocenę sztywności naczyń tętniczych i fali tętna obwodowego i centralnego, (3) ustalenie związków pomiędzy hormonami i parametrami biochemicznymi a parametrami hemodynamicznymi i sztywnością naczyniową.

*Materiał i metody:* Grupę badaną stanowiło 55 zdrowych, regularnie miesiączkujących, normotensyjnych kobiet w wieku 21-39 lat (średnia wieku  $30 \pm 5$  lat), u których wykluczono istnienie endokrynopatii, nadciśnienia i stosowanie substancji mogących wpływać na układ krążenia i profil hormonalny.

Wykonano oznaczenia stężeń hormonów w surowicy krwi w EFP: LH, FSH, Estradiol (E2), Testosteron, DHEAS, TSH, PRL i SHBG; w LFP: LH, FSH, E2; oraz w LP: LH, FSH, E2, Progesteron (PROG). Dodatkowo wykonano oznaczenia stężeń lipidów, doustny test obciążenia 75 g glukozy, oraz obliczono wskaźniki insulinowrażliwości (HOMA, QUICKI, ISI-M) w czasie wczesnej fazy folikularnej.



Podczas każdej wizyty wykonywano ginekologiczne dopochwowe badanie ultrasonograficzne, a także badanie kardiologiczne z oceną wartości ciśnienia obwodowego i centralnego oraz parametrów opisujących sztywność naczyniową. W czasie rzeczywistym (beat-to-beat), w ciągły, nieinwazyjny sposób zostały zapisane pomiary kształtu fali tętna na tętnicy promieniowej przy zastosowaniu nadgarstkowego piezoelektrycznego tonometru (Collin BPM 7000, Colin Co, Japonia), a następnie dokonano rekonstrukcji fali tętna centralnego (odpowiadającej ciśnieniu krwi w aorticie wstępującej) za pomocą urządzenia Sphygmocor MX (Sphygmocor, AtCor Australia).

*Wyniki:* Nie wykazano istotnych różnic w obwodowym (tętnica promieniowa) ciśnieniu tętniczym (ciśnienie skurczowe, rozkurczowe, średnie, tętna) między fazami cyklu miesięczkowego (EFP vs LFP vs LP).

Wyniki, wskazujące na pewne różnice międzyfazowe uzyskano dla parametrów centralnego ciśnienia tętniczego odpowiadającego ciśnieniu w aorticie wstępującej. Centralne ciśnienie skurczowe oraz centralne ciśnienie rozkurczowe nie wykazały istotnych statystycznie różnic w trzech wymienionych punktach czasowych. W odróżnieniu od parametrów obwodowych, stwierdzono istotne statystycznie różnice w wartościach centralnego ciśnienia tętna pomiędzy późną fazą folikularną a fazą lutealną, w której było niższe o 6% (LFP vs LP =  $26,8 \pm 5,4$  vs  $25,1 \pm 3,9$ ,  $p < 0,05$ ).

Dokonując analizy fali tętna wykazano istotne statystycznie różnice w wartościach parametrów opisujących sztywność naczyniową w trzech punktach cyklu miesięczkowego. Obwodowy wskaźnik wzmocnienia – pAI okazał się istotnie niższy (o 6%) w fazie lutealnej w porównaniu z późną fazą folikularną (LFP vs LP =  $58,6 \pm 12,4$  vs  $55,1 \pm 11,9$ ,  $p < 0,05^*$ ). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy wczesną fazą folikularną i późną fazą folikularną oraz wczesną fazą folikularną a fazą lutealną. Centralny wskaźnik wzmocnienia – cAI miał istotnie niższe wartości w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego w porównaniu zarówno z wczesną jak i z późną fazą folikularną – odpowiednio o 2% oraz 4% (EFP vs LP =  $112,3 \pm 12,5$  vs  $110,1 \pm 12,5$ ,  $p < 0,05^*$ ; LFP vs LP =  $114,5 \pm 12,7$  vs  $110,1 \pm 12,5$ ,  $p < 0,05^*$ ). Nie potwierdzono natomiast różnic cAI pomiędzy początkiem i końcem fazy folikularnej. Potwierdzono istotne statystycznie różnice wartości centralnego ciśnienia wzmocnienia – cAP pomiędzy fazą lutealną a późną fazą folikularną, w której było wyższe o 34% (LFP vs LP =  $3,3 \pm 3,0$  vs  $2,2 \pm 2,8$ ,  $p < 0,05^*$ ). Wartości cAP nie różniły się znacząco pomiędzy wczesną i późną fazą folikularną oraz wczesną fazą folikularną a fazą lutealną.

W trakcie analizy sprawdzono występowanie korelacji pomiędzy stężeniami hormonów a podstawowymi parametrami opisującymi sztywność naczyń. Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy stężeniem progesteronu a ciśnieniem rozkurczowym w tętnicy promieniowej ( $r=0,29$ ,  $p=0,04$ ) i aorcie wstępującej ( $r=0,30$ ,  $p=0,03$ ), jak również ciśnieniem średnim ( $r=0,28$ ,  $p=0,047$ ) podczas fazy lutealnej. Wykazano również istnienie istotnych odwrotnych korelacji pomiędzy współczynnikiem E2:PROG w fazie lutealnej a parametrami opisującymi sztywność naczyniową: pAI ( $r= -0,31$ ,  $p=0,03$ ), cAI ( $r= -0,33$ ,  $p=0,02$ ), cAP ( $r= -0,35$ ,  $p=0,01$ ). We wczesnej fazie folikularnej cyklu miesięczkowego zaobserwowano także istnienie istotnej odwrotnej korelacji testosteronu z centralnym ciśnieniem wzmocnienia ( $r= -0,27$ ,  $p=0,047$ ) oraz istotne statystycznie odwrotne korelacje pomiędzy stężeniami prolaktyny a parametrami opisującymi obwodową (PRL:pAI,  $r= -0,31$ ,  $p=0,02$ ) i centralną sztywność naczyniową (PRL:cAI,  $r= -0,32$ ,  $p=0,02$ , PRL:cAP,  $r= -0,32$ ,  $p=0,02$ ).

*Podsumowanie:* Wyniki przedstawionej pracy sugerują występowanie zmian wartości parametrów opisujących sztywność naczyniową i falę tętna w przebiegu cyklu miesięczkowego. Potwierdzają jednocześnie tezę o znaczącym wpływie hormonów płciowych i ich zmian cyklicznych na układ krążenia. Interpretacja wyników badania pozwala stwierdzić, że środkowa faza lutealna cyklu cechuje się najniższymi wartościami parametrów opisujących sztywność naczyniową i centralnego ciśnienia tętniczego.

Występowanie istotnych statystycznie różnic parametrów sztywności naczyń i ciśnienia centralnego pomiędzy fazami cyklu miesięczkowego może być powodem do standaryzacji czasu wykonywania testów kardiologicznych u kobiet w wieku rozrodczym. Faza cyklu miesięczkowego powinna być również brana pod uwagę przy interpretacji oceny ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych w tej populacji.

## X. ABSTRACT

*Introduction:* Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide among men and women. The risk of illness and death from cardiovascular causes in the female population significantly increases after menopause but subtle structural and functional abnormalities in the cardiovascular system, independent of traditional risk factors can be detected in young women of reproductive age. Elasticity of the arteries and its regulatory factors seem to play an important role in the development of this pathology. Information about potential differences (or lack of differences) in hemodynamic parameters and arterial stiffness between different phases of the menstrual cycle may have significant influence on performing and analysing various cardiologic diagnostic tests. Although physiological hormonal changes taking place during menstrual cycle are well-examined, the influence of the individual hormones and their variability on the cardiovascular system remains unclear.

The aim of this study was to assess hemodynamic parameters and mechanical properties of the arteries at three time points of the menstrual cycle in healthy women of reproductive age: the early follicular phase (EFP), the late follicular phase (LFP) and the midluteal phase (LP). This aim was accomplished by: (1) an assessment of systolic, diastolic, mean and pulse pressure in the radial artery and the ascending aorta, (2) an assessment of arterial stiffness and peripheral and central pulse wave analysis, and (3) determination of the relationship between hormones and hemodynamic parameters.

*Material and methods:* Fifty five healthy, regularly menstruating, normotensive women of reproductive age (mean age  $30 \pm 5$  years) were recruited to the study. Any endocrinopathy, hypertension and use of substances that may affect the cardiovascular and hormonal profile were excluded.

Serum hormonal concentrations were investigated: in the EFP: LH, FSH, Estradiol (E2), Testosterone, TSH, PRL, DHEAS and SHBG; in the LFP: LH, FSH, E2; in the LP: LH, FSH, E2 and progesterone (PROG). Blood lipids levels were measured, 75g oral glucose tolerance test (OGTT) was performed and insulin sensitivity indices (HOMA, QUICKI, ISI-M) were calculated during the EFP. Gynecological transvaginal ultrasound as well as non-invasive continuous aplanation tonometry (Colin BMP7000, Japan) to measure peripheral (radial) pulse pressure wave with subsequent on-line reconstruction of central (aortal) pulse pressure wave (Sphygmocor Mx, Australia) was performed in all three phases.

*Results:* There were no significant differences in peripheral (radial artery) blood pressure (systolic, diastolic, mean, pulse) between three phases of the menstrual cycle (LFP vs. EFP vs. LP).

Results indicating some interphasal differences were obtained for central blood pressure parameters corresponding to the pressure in the ascending aorta. Central systolic blood pressure and central diastolic blood pressure showed no statistically significant differences at three time points. In contrast to the peripheral parameters statistically significant differences in central pulse pressure were found. It was lower by 6% in the late follicular phase in comparison to the luteal phase (LFP vs LP =  $26.8 \pm 5.4$  vs.  $25.1 \pm 3.9$ ,  $p < 0.05$ ).

The pulse wave analysis demonstrated statistically significant differences in the values of parameters describing vascular stiffness at three points of the menstrual cycle. Peripheral augmentation index - pAI was significantly lower (about 6%) in the luteal phase compared to late follicular phase (LFP vs. LP =  $58.6 \pm 12.4$  vs.  $55.1 \pm 11.9$ ,  $p < 0.05^*$ ). There were no significant differences between the early and late follicular phases and the early follicular and the luteal phases. Central augmentation index - cAI had significantly lower values in the luteal phase of the menstrual cycle compared with both the early and the late follicular phases (by 2% and 4%) (EFP vs. LP =  $112.3 \pm 12.5$  vs.  $110.1 \pm 12.5$ ,  $p < 0.05^*$ ; LFP vs. LP =  $114.5 \pm 12.7$  vs.  $110.1 \pm 12.5$ ,  $p < 0.05^*$ ). Statistically significant differences in the central augmentation pressure – cAP between the late follicular and the luteal phases (LP lower by 34% compared with LFP) were also confirmed (LFP vs. LP =  $3.3 \pm 3.0$  vs  $2.2 \pm 2.8$ ,  $p < 0.05^*$ ). cAP values did not differ significantly between the early and the late follicular phases and the early follicular phase and the luteal phase.

Correlations between the hormone levels and the parameters describing arterial stiffness and blood pressure were analyzed. There were significant correlations between serum progesterone and diastolic blood pressure in the radial artery ( $r = 0.29$ ,  $p = 0.04$ ), and the ascending aorta ( $r = 0.30$ ,  $p = 0.03$ ), as well as between serum progesterone and mean pressure ( $r = 0.28$ ,  $p = 0.047$ ) during the luteal phase. We also demonstrated the significant inverse correlation between the ratio of E2:PROG in the luteal phase and vascular stiffness parameters pAI ( $r = -0.31$ ,  $p = 0.03$ ), cAI ( $r = -0.33$ ,  $p = 0.02$ ), cAP ( $r = -0.35$ ,  $p = 0.01$ ). In the early follicular phase of the menstrual cycle a significant inverse correlation of testosterone with central augmentation pressure ( $r = -0.27$ ,  $p = 0.047$ ) and statistically significant inverse correlations between prolactin levels and the parameters describing the peripheral (PRL:pAI,  $r = -0.31$ ,  $p = 0.02$ ) and

central (PRL:cAI,  $r = -0.32$ ,  $p = 0.02$ , PRL:cAP,  $r = -0.32$ ,  $p = 0.02$ ) vascular stiffness were observed.

*Conclusion:* The results of this study suggest a change in the mechanical properties of the arteries during menstrual cycle. It confirms the significant influence of sex hormones and their cyclical changes on the cardiovascular system. The study shows that midluteal phase of the cycle is characterized by the lowest values of parameters describing vascular stiffness and central blood pressure.

Statistically significant differences in parameters of vascular stiffness and central pressure between the phases of the menstrual cycle may be considered to standardize the time of cardiac testing in women of reproductive age. Phase of the menstrual cycle should be taken into account when interpreting cardiovascular risk assessment in this population.

## XI. PIŚMIENNICTWO

1. [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html).
2. 2012 European Cardiovascular Disease Statistics, European Heart Network and European Society of Cardiology. 2012;1–129.  
<http://www.escardio.org/about/Documents/EU-cardiovascular-disease-statistics-2012.pdf>
3. Skałba P. Budowa i czynność układu podwzgórze - przysadka - jajnik. [W:] Skałba P. Endokrynologia Ginekologiczna; Warszawa: PZWL; 2008;56-116.
4. Kozakiewicz K, Wycisk A. Hormonalna terapia zastępcza i modulatory receptorów estrogenowych w prewencji chorób układu krążenia. *Wiad Lek* 2006;59:377–82.
5. Rubanyi GM, Kauser K, Johns A. Role of estrogen receptors in the vascular system. *Vascul Pharmacol* 2002;38:81–8.
6. Mukamal KJ, Muller JE, Maclure M, et al. Variation in the risk of onset of acute myocardial infarction during the menstrual cycle. *Am J Cardiol* 2002;90:49–51.
7. Hamelin BA, Méthot J, Arsenault M, et al. Influence of the menstrual cycle on the timing of acute coronary events in premenopausal women. *Am J Med* 2003;114:599–602.
8. Mendelsohn ME. Nongenomic, ER-mediated activation of endothelial nitric oxide synthase: how does it work? What does it mean? *Circ Res* 2000;87:956–60.
9. 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;103:401–6.
10. Wellman GC, Bonev AD, Nelson MT, Brayden JE. Gender differences in coronary artery diameter involve estrogen, nitric oxide, and Ca(2+)-dependent K<sup>+</sup> channels. *Circ Res* 1996;79:1024–30.
11. Sudhir K, Ko E, Zellner C, et al. Physiological concentrations of estradiol attenuate endothelin 1-induced coronary vasoconstriction in vivo. *Circulation* 1997;96:3626–32.
12. Dubey RK, Jackson EK, Keller PJ, et al. Estradiol metabolites inhibit endothelin synthesis by an estrogen receptor-independent mechanism. *Hypertension* 2001;37:640–4.
13. Kharitonov SA, Logan-Sinclair RB, Busset CM, Shinebourne EA. Peak expiratory nitric oxide differences in men and women: relation to the menstrual cycle. *Br Heart J* 1994;72:243–5.

14. White RE, Han G, Maunz M, et al. Endothelium-independent effect of estrogen on Ca(2+)-activated K(+) channels in human coronary artery smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2002;53:650–61.
15. Beyer ME, Yu G, Hanke H, Hoffmeister HM. Acute gender-specific hemodynamic and inotropic effects of 17beta-estradiol on rats. *Hypertension* 2001;38:1003–10.
16. Xue B, Pamidimukkala J, Lubahn DB, Hay M. Estrogen receptor-alpha mediates estrogen protection from angiotensin II-induced hypertension in conscious female mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;292:1770–6.
17. Chakrabarti S, Lekontseva O, Davidge ST. Estrogen is a modulator of vascular inflammation. *IUBMB Life*. 2008;60:376–82.
18. Gaskins AJ, Wilchesky M, Mumford SL, et al. Endogenous reproductive hormones and C-reactive protein across the menstrual cycle: The BioCycle Study. *Am J Epidemiol* 2012;175:423–31.
19. Wander K, Brindle E, O'Connor KA. C-reactive protein across the menstrual cycle. *Am J Phys Anthropol* 2008;136:138–46.
20. Prestwood KM, Unson C, Kulldorff M, Cushman M. The effect of different doses of micronized 17beta-estradiol on C-reactive protein, interleukin-6, and lipids in older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:827–32.
21. Novella S, Heras M, Hermenegildo C, Dantas AP. Effects of estrogen on vascular inflammation: a matter of timing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:2035–42.
22. 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;288:321–33.
23. 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;280:605–13.
24. Nelson HD, Humphrey LL, Nygren P, et al. Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review. *JAMA* 2002;288:872–81.
25. Thomas P, Pang Y. Protective actions of progesterone in the cardiovascular system: Potential role of membrane progesterone receptors (mPRs) in mediating rapid effects. *STEROIDS* 2013. doi:pii: S0039-128X(13)00020-2. 10.1016/j.steroids.2013.01.003. [Epub ahead of print]
26. Selles J, Polini N, Alvarez C, Massheimer V. Progesterone and 17 beta-estradiol acutely stimulate nitric oxide synthase activity in rat aorta and inhibit platelet aggregation. *Life Sci* 2001;69:815–27.

27. Simoncini T, Mannella P, Fornari L, Caruso A, et al. Differential signal transduction of progesterone and medroxyprogesterone acetate in human endothelial cells. *Endocrinology* 2004;145:5745–56.
28. Murphy JG, Khalil RA. Decreased  $[Ca^{2+}]_i$  during inhibition of coronary smooth muscle contraction by 17 $\beta$ -estradiol, progesterone, and testosterone. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291:44–52.
29. Minshall RD, Pavcnik D, Browne DL, Hermsmeyer K. Nongenomic vasodilator action of progesterone on primate coronary arteries. *J Appl Physiol* 2002;92:701–8.
30. Rosano GM, Webb CM, Chierchia S, et al. Natural progesterone, but not medroxyprogesterone acetate, enhances the beneficial effect of estrogen on exercise-induced myocardial ischemia in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2154–9.
31. Davison SL, Bell R, Donath S, et al. Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3847–53.
32. Hanke H, Lenz C, Hess B, et al. Effect of testosterone on plaque development and androgen receptor expression in the arterial vessel wall. *Circulation* 2001;103:1382–5.
33. Montalcini T, Migliaccio V, Ferro Y, et al. Androgens for postmenopausal women's health? *Endocrine* 2012;42:514–20.
34. Heinlein CA, Chang C. The roles of androgen receptors and androgen-binding proteins in nongenomic androgen actions. *Mol Endocrinol* 2002;16:2181–7.
35. English KM, Jones RD, Jones TH, et al. Testosterone acts as a coronary vasodilator by a calcium antagonistic action. *J Endocrinol Invest* 2002;25:455–8.
36. Jankowska EA, Biel B, Majda J, et al. Anabolic deficiency in men with chronic heart failure: prevalence and detrimental impact on survival. *Circulation* 2006;114:1829–37.
37. Christakou CD, Diamanti-Kandarakis E. Role of androgen excess on metabolic aberrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *Womens Health (Lond Engl)* 2008;4:583–94.
38. Boyle J III. Fizjologia układu krążenia. [W:] Bullock J, Boyle J, Wang MB. *Fizjologia*. Wrocław: Urban & Partner; 2000;130–218.
39. Kubalski P, Manitius J. Sztywność tętnic, ciśnienie centralne, współczynnik wzmocnienia - kompendium nie tylko dla hipertensjologa. *Choroby Serca i Naczyń* 2008;5:61–7.



40. Franklin SS, Khan SA, Wong ND et al. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham heart study. *Circulation* 1999;100:354–60.
41. Wilkinson IB, Franklin SS, Hall IR, et al. Pressure amplification explains why pulse pressure is unrelated to risk in young subjects. *Hypertension* 2001;38:1461–6.
42. London GM, Pannier B. Arterial functions: how to interpret the complex physiology. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:3815–23.
43. [www.atcormedical.com/pdf/SphygmoCor%20Clinical%20Guide.pdf](http://www.atcormedical.com/pdf/SphygmoCor%20Clinical%20Guide.pdf).
44. Laurent S, Boutouyrie P, Lacolley P. Structural and genetic bases of arterial stiffness. *Hypertension* 2005;45:1050–5.
45. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:932–43.
46. Urbina EM, Williams RV, Alpert BS, et al. Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in children and adolescents: recommendations for standard assessment for clinical research: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 2009;54:919–50.
47. O'Rourke MF, Pauca A, Jiang XJ. Pulse wave analysis. *Br J Clin Pharmacol* 2001;51:507–22.
48. Horváth IG, Németh A, Lenkey Z, et al. Invasive validation of a new oscillometric device (Arteriograph) for measuring augmentation index, central blood pressure and aortic pulse wave velocity. *J Hypertens* 2010;28:2068–75.
49. Weber T, Ammer M, Rammer M, et al. Noninvasive determination of carotid-femoral pulse wave velocity depends critically on assessment of travel distance: a comparison with invasive measurement. *J Hypertens* 2009;27:1624–30.
50. Gunjaca G, Jeroncic A, Budimir D, et al. A complex pattern of agreement between oscillometric and tonometric measurement of arterial stiffness in a population-based sample. *J Hypertens* 2012;30:1444–52.
51. Naidu M, Reddy B, Yashmaina S, et al. Validity and reproducibility of arterial pulse wave velocity measurement using new device with oscillometric technique: A pilot study. *Biomed Eng Online* 2005;4:49.
52. Ageenkova O, Purygina MA. Central aortic blood pressure, augmentation index, and reflected wave transit time: reproducibility and repeatability of data obtained by oscillometry. *Vasc Health Risk Manag* 2011;7:649-56.
53. Millasseau SC, Kelly RP, Ritter JM, Chowienczyk PJ. Determination of age-related increases in large artery stiffness by digital pulse contour analysis. *Clin Sci (Lond)* 2002;103:371–7.

54. Padilla JM, Berjano EJ, Sáiz J, et al. Pulse wave velocity and digital volume pulse as indirect estimators of blood pressure: pilot study on healthy volunteers. *Cardiovasc Eng* 2009;9:104–12.
55. Moran VH, Leathard HL, Coley J. Cardiovascular functioning during the menstrual cycle. *Clin Physiol* 2000;20:496–504.
56. Chapman AB, Zamudio S, Woodmansee W, et al. Systemic and renal hemodynamic changes in the luteal phase of the menstrual cycle mimic early pregnancy. *Am J Physiol* 1997;273:777–82.
57. Williams MR, Westerman RA, Kingwell BA et al. Variations in endothelial function and arterial compliance during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5389–95.
58. Hayashi K, Miyachi M, Seno N, et al. Variations in carotid arterial compliance during the menstrual cycle in young women. *Exp Physiol* 2006;91:465–72.
59. Robb AO, Mills NL, Din JN, et al. Influence of the menstrual cycle, pregnancy, and preeclampsia on arterial stiffness. *Hypertension* 2009;53:952–8.
60. Adkisson EJ, Casey DP, Beck DT, et al. Central, peripheral and resistance arterial reactivity: fluctuates during the phases of the menstrual cycle. *Exp Biol Med* 2010;235:111–8.
61. Papaioannou TG, Stamatelopoulos KS, Georgiopoulos G, et al. Arterial wave reflections during the menstrual cycle of healthy women: a reproducibility study. *Hypertension* 2009;54:1021–7.
62. Ounis-Skali N, Mitchell GF, Solomon CG, et al. Changes in central arterial pressure waveforms during the normal menstrual cycle. *J Investig Med* 2006;54:321–6.
63. Guzik P, Gielerak G. Nowe nieinwazyjne metody oceny funkcji układu krążenia. *Pol Merkur Lekarski* 2005;19:681–5.
64. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462–536.
65. Kannel W. Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham study\*1. *Am J Hypertens* 2000;13:S3–S10.
66. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke* 2003;34:1203–6.
67. 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;113:1213–25.

68. Miyashita H. Clinical assessment of central blood pressure. *Curr Hypertens Rev* 2012;8:80–90.
69. Natoli AK, Medley TL, Ahimastos AA et al. Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression. *Hypertension* 2005;46:1129–34.
70. Ahimastos AA, Formosa M, Dart AM, Kingwell BA. Gender differences in large artery stiffness pre- and post puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5375–80.
71. Orshal JM, Khalil RA. Gender, sex hormones, and vascular tone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;286:233–49.
72. Dunne FP, Barry DG, Ferriss JB, et al. Changes in blood pressure during the normal menstrual cycle. *Clin Sci (Lond)* 1991;81:515–8.
73. Krejza J, Mariak Z, Huba M, et al. Effect of endogenous estrogen on blood flow through carotid arteries. *Stroke* 2001;32:30–6.
74. Hassan AA, Carter G, Tooke JE. Postural vasoconstriction in women during the normal menstrual cycle. *Clin Sci (Lond)* 1990;78:39–47.
75. Van Beek E, Houben AJ, van Es PN, et al. Peripheral haemodynamics and renal function in relation to the menstrual cycle. *Clin Sci (Lond)* 1996;91:163–8.
76. Lewandowski J, Pruszczyk P, Elaffi M, et al. Blood pressure, plasma NPY and catecholamines during physical exercise in relation to menstrual cycle, ovariectomy, and estrogen replacement. *Regul Pept* 1998;75-76:239–45.
77. Giannattasio C, Failla M, Grappiolo A, et al. Fluctuations of radial artery distensibility throughout the menstrual cycle. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1925–9.
78. Huan Y, Townsend R. Is there a role for measuring central aortic pressure? *Curr Cardiol Rep* 2011;13:502–6.
79. Roman MJ, Devereux RB, Kizer JR, et al. Central pressure more strongly relates to vascular disease and outcome than does brachial pressure: the Strong Heart Study. *Hypertension* 2007;50:197–203.
80. Roman MJ, Devereux RB, Kizer JR, et al. High central pulse pressure is independently associated with adverse cardiovascular outcome the strong heart study. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1730–4.
81. Chirinos JA, Zambrano JP, Chakko S, et al. Relation between ascending aortic pressures and outcomes in patients with angiographically demonstrated coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;96:645–8.
82. Safar ME, Blacher J, Pannier B, et al. Central pulse pressure and mortality in end-stage renal disease. *Hypertension* 2002;39:735–8.

83. 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;37:1236–41.
84. Willekes C, Hoogland HJ, Keizer HA, et al. Female sex hormones do not influence arterial wall properties during the normal menstrual cycle. *Clin Sci (Lond)* 1997;92:487–91.
85. Chidambaram M, Duncan JA, Lai VS, et al. Variation in the renin angiotensin system throughout the normal menstrual cycle. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:446–52.
86. Polderman KH, Stehouwer CD, van Kamp GJ, et al. Modulation of plasma endothelin levels by the menstrual cycle. *Metab. Clin. Exp.* 2000;49:648–50.
87. Taguchi M, Alfer J, Chwalisz K, et al. Endothelial nitric oxide synthase is differently expressed in human endometrial vessels during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2000;6:185–90.
88. Presser SC, Stanczyk FZ, Lobo RA. Simultaneous measurements of prostacyclin and thromboxane metabolites during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:647–51.
89. Tabibzadeh S, Kong QF, Babaknia A. Expression of adhesion molecules in human endometrial vasculature throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1024–32.
90. Jilma B, Hildebrandt J, Kapiotis S, et al. Effects of estradiol on circulating P-selectin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2350–5.
91. Agrawal R, Conway GS, Sladkevicius P, et al. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in the normal menstrual cycle: association with changes in ovarian and uterine Doppler blood flow. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:101–6.
92. De Créé C, Malinow MR, van Kranenburg GP, et al. Influence of exercise and menstrual cycle phase on plasma homocyst(e)ine levels in young women--a prospective study. *Scand J Med Sci Sports* 1999;9:272–8.
93. Santoro N. Update in hyper- and hypogonadotropic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:3281–8.
94. Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, et al. Menstrual cycle irregularity and risk for future cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2013–7.
95. Christakou C, Diamanti-Kandarakis E. PCOS and cardiovascular risk factors. *Curr Pharm Des* 2013. [Epub ahead of print].
96. Molinari C, Grossini E, Mary DA, et al. Prolactin induces regional vasoconstriction through the beta2-adrenergic and nitric oxide mechanisms. *Endocrinology* 2007;148:4080–90.
97. Saruta T, Kawabe H, Fujimaki M, et al. Prolactin, renin and catecholamines in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens A* 1983;5:531–41.

98. Carrero JJ, Kyriazis J, Sonmez A, et al. Prolactin levels, endothelial dysfunction, and the risk of cardiovascular events and mortality in patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7:207–15.
99. Sauro MD, Zorn NE. Prolactin induces proliferation of vascular smooth muscle cells through a protein kinase C-dependent mechanism. *J Cell Physiol* 1991;148:133–8.
100. Aziz MM, Ishihara S, Rumi MA, et al. Prolactin induces MFG-E8 production in macrophages via transcription factor C/EBPbeta-dependent pathway. *Apoptosis* 2008;13:609–20.
101. Bresson JL, Jeay S, Gagnerault MC, et al. Growth hormone (GH) and prolactin receptors in human peripheral blood mononuclear cells: relation with age and GH-binding protein. *Endocrinology* 1999;140:3203–9.
102. Sun R, Li AL, Wei HM, Tian ZG. Expression of prolactin receptor and response to prolactin stimulation of human NK cell lines. *Cell Res* 2004;14:67–73.
103. Hilfiker-Kleiner D, Struman I, Hoch M, et al. 16-kDa prolactin and bromocriptine in postpartum cardiomyopathy. *Curr Heart Fail Rep* 2012;9:174–82.
104. Chen BL, Zhang ZH, Liu NB, Huang KS. Prolactin in normal pregnancy and severe pregnancy-induced hypertension. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2001;26:67–9.
105. Nassar BA, Manku MS, Reed JD, et al. Actions of prolactin and frusemide on heart rate and rhythm. *Br Med J* 1974;2:27–9.
106. Georgiopoulos GA, Stamatelopoulos KS, Lambrinouadaki I, et al. Prolactin and preclinical atherosclerosis in menopausal women with cardiovascular risk factors. *Hypertension* 2009;54:98–105.
107. Yamac H, Bultmann I, Sliwa K, Hilfiker-Kleiner D. Prolactin: a new therapeutic target in peripartum cardiomyopathy. *Heart* 2010;96:1352–7.