

**Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

**Adam Czyżyk**

Czynnościowy podwzgórzowy brak  
miesiączki – sztywność naczyń  
i centralne parametry hemodynamiczne

Rozprawa doktorska

**Promotor:**  
**Prof. dr hab. med. Błażej Męczekalski**  
**Poznań 2014**

Promotorowi Profesorowi Błażejowi Męczekalskiemu,  
składam serdeczne podziękowania za nieocenioną pomoc i wsparcie.

## SPIS TREŚCI

---

Spis Rycin.....	5
Spis tabel .....	5
Spis wykresów .....	5
Spis skrótów .....	7
1 Wstęp .....	10
1.1 Podwzgórzowy czynnościowy brak miesiączki (FHA) – definicja, epidemiologia.....	10
1.2 Zaburzenia neuroendokryne w podwzgórzowym czynnościowym braku miesiączki .....	11
1.2.1 Układy neurohormonalne regulacji głodu i sytości .....	12
1.2.2 Oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa .....	13
1.2.3 Oś podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowa .....	14
1.3 Wpływ czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki na zdrowie kobiety.....	14
1.3.1 Wpływ na układ nerwowy, zaburzenia psychiczne i seksualne.....	14
1.3.2 Wpływ na układ kostno-szkieletowy.....	15
1.4 Wpływ steroidowych hormonów jajnika na układ sercowo-naczyniowy.....	16
1.4.1 Estrogeny.....	16
1.4.2 Progesteron .....	17
1.5 Wpływ czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki na układ sercowo naczyniowy	18
1.5.1 Zaburzenia czynności śródbłonka .....	18
1.5.2 Reakcja zapalna .....	19
1.5.3 Profil lipidowy .....	20
1.5.4 Regulacja autonomiczna układu sercowo-naczyniowego w podwzgórzowym czynnościowym braku miesiączki.....	20
1.5.5 Dane kliniczne.....	21
1.6 Sztywność naczyń i pojęcie fali tętna .....	22
1.7 Znaczenie kliniczne badania sztywności naczyń.....	26
2 Cel pracy .....	27
3 Materiał .....	28
4 Metodyka.....	30
4.1 Badanie podmiotowe .....	30
4.2 Badanie przedmiotowe.....	30
4.3 Ocena składu ciała .....	30
4.4 Badania obrazowe .....	31

4.5	Oznaczenia hormonalne i biochemiczne .....	31
4.6	Ocena sztywności naczyń.....	33
4.7	Analiza statystyczna.....	34
5	Wyniki.....	35
5.1	Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej.....	35
5.2	Wyniki badań hormonalnych i biochemicznych.....	38
5.3	Częstotliwość rytmu serca .....	45
5.4	Analiza obwodowych parametrów hemodynamicznych.....	46
5.5	Analiza ośrodkowych parametrów hemodynamicznych .....	49
5.7	Analiza korelacyjna .....	53
5.7.1	Wskaźniki antropometryczne.....	53
5.7.2	Stężenia hormonów .....	54
5.7.3	Parametry metaboliczne .....	58
6	Dyskusja.....	62
6.1	Hipoestrogenizm i zaburzenia cyklu jako czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych ....	62
6.2	Parametry hemodynamiczne oraz wykładniki sztywności naczyń w FHA. ....	63
6.3	Parametry hormonalne, a parametry hemodynamiczne .....	66
6.3.1	Stężenia estradiolu.....	66
6.3.2	Stężenie androgenów .....	68
6.3.3	Stężenia pozostałych hormonów.....	69
6.4	Parametry antropometryczne i metaboliczne, a wskaźniki hemodynamiczne.....	70
6.5	Podsumowanie.....	74
6.6	Ograniczenia badania .....	74
7	Wnioski.....	75
8	Streszczenie .....	76
	Słowa kluczowe:.....	77
9	Abstract .....	78
	Key words .....	79
10	Piśmiennictwo.....	80

## SPIS RYCIN

---

Rycina 1-1. Schemat zaburzeń neuroendokrynych w podwzgórzowym czynnościowym braku miesiączki .....	12
Rycina 1-2 Powstawanie fali tętna w aorcie oraz wykres fali tętna.....	24
Rycina 1-3. Wykres krzywej ciśnienia fali tętna w funkcji czasu.....	24

## SPIS TABEL

---

Tabela 1-1. Konsekwencje czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki .....	14
Tabela 5-1 Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej .....	36
Tabela 5-2 Wyniki analizy składu ciała metodą bioimpedancyjną w grupie badanej i kontrolnej. ....	38
Tabela 5-3 Parametry hormonalne w grupie badanej i kontrolnej .....	39
Tabela 5-4 Profil lipidowy u pacjentek z grupy badanej i kontrolnej.....	42
Tabela 5-5 Stężenia glukozy, insuliny i wartość HOMA w grupie badanej i kontrolnej. ....	44
Tabela 5-6 Wartości ciśnień obwodowych dla grupy badanej i kontrolnej .....	46
Tabela 5-7 Wartości ciśnień oraz czasy wystąpienia pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej. ....	47
Tabela 5-8. Ośrodkowe ciśnienie skurczowe, rozkurczowe, średnie oraz tętna w grupie badanej i kontrolnej.....	49
Tabela 5-9 Wartości ciśnień oraz czasy wystąpienia pierwszego i drugiego szczytu ośrodkowego ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej. ....	50
Tabela 5-10. Współczynniki korelacji r Spearmana dla stężeń LH i PPP, PAI, CAI, CPP.....	56
Tabela 5-11 Współczynniki korelacji r Spearmana dla stężeń TSH, PRL i PPP, PAI, CAI, CPP. ....	57
Tabela 5-12 Współczynniki korelacji r Spearmana i Pearsona dla stężeń Testosteronu, DHEAS i PPP, PAI, CAI, CPP. ....	57
Tabela 5-13 Współczynnik korelacji Pearsona dla stężeń TG, TCh, LDL i HDL, a wskaźnikami PPP, CPP, CAI, PAI w grupie badanej i kontrolnej.....	60

## SPIS WYKRESÓW

---

Wykres 5-1 Podział grupy badanej i kontrolnej wg BMI .....	35
Wykres 5-2 Procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w grupie badanej i kontrolnej.....	37
Wykres 5-3 Bezwzględna zawartość tkanki tłuszczowej w grupie badanej i kontrolnej.....	37
Wykres 5-4. Stężenia FSH i LH w surowicy w grupie badanej i kontrolnej.....	40
Wykres 5-5 Stężenia testosteronu i DHEAS w surowicy w grupie badanej i kontrolnej. ....	41
Wykres 5-6 Stężenia TSH i fT4 w grupie badanej i grupie kontrolnej. ....	41
Wykres 5-7 Stężenia TCh, LDL, HDL i TG w osoczu w grupie badanej i kontrolnej. ....	43
Wykres 5-8 Stężenia glukozy w grupie badanej i kontrolnej.....	44
Wykres 5-9 Stężenia insuliny w surowicy w grupie badanej i kontrolnej. ....	45
Wykres 5-10 Częstotliwość rytmu serca w grupie badanej i kontrolnej.....	45
Wykres 5-12 Pierwszy i drugi szczyt ciśnienia obwodowego w grupie badanej i kontrolnej.....	47

Wykres 5-13 Czas pierwszego i drugiego szczytu obwodowego ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej.....	48
Wykres 5-14 Obwodowy wskaźnik wzmocnienia (PAI) w grupie badanej i kontrolnej.....	48
Wykres 5-15. Ośrodkowe ciśnienie tętna (CPP) w grupie FHA i badanej.....	50
Wykres 5-16 Pierwszy i drugi szczyt ciśnienia ośrodkowego w grupie badanej i kontrolnej.....	51
Wykres 5-17 Czas pierwszego i drugiego szczytu ośrodkowego ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej.....	51
Wykres 5-18 Ośrodkowy wskaźnik wzmocnienia (CAI) w grupie badanej i kontrolnej.....	52
Wykres 5-19 Ośrodkowe ciśnienie wzmocnienia (CAP) w grupie badanej i kontrolnej.....	52
Wykres 5-20 Korelacja między obwodowym (PAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a zawartością tkanki tłuszczowej - grupa FHA.....	53
Wykres 5-21 Korelacja między obwodowym (PAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a zawartością tkanki tłuszczowej - grupa kontrolna.....	54
Wykres 5-22 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a stężeniem estradiolu (E2) w grupie FHA.....	54
Wykres 5-23 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a stężeniem estradiolu (E2) w grupie kontrolnej.....	55
Wykres 5-24 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a stężeniem estradiolu (E2) w grupie FHA.....	55
Wykres 5-25 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a stężeniem estradiolu w grupie kontrolnej.....	56
Wykres 5-26 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a współczynnikiem HOMA - grupa FHA.....	58
Wykres 5-27 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a współczynnikiem HOMA - grupa FHA.....	58
Wykres 5-28 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a współczynnikiem HOMA - grupa kontrolna.....	59
Wykres 5-29 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a współczynnikiem HOMA - grupa kontrolna.....	59
Wykres 5-30 Korelacja między PPP i CPP, a stężeniem TG w surowicy w grupie FHA.....	61
Wykres 5-31 Korelacja między PPP i CPP, a stężeniem TG w surowicy - grupa kontrolna.....	61

## SPIS SKRÓTÓW

---

- ACTH – (adrenocorticotrophic hormone) adrenokortykotropina
- AI – (augmentation index) wskaźnik wzmocnienia
- AGRP – (agouti related protein) białko agouti
- AP – (augmentation pressure) ciśnienie wzmocnienia
- AT1R – (angiotensin receptor 1) receptor angiotensynowy 1
- BMD – (bone mineral density) gęstość mineralna kości
- 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
- COX – (cyclooxygenase) – cyklooksygenaza
- 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
- CRH – (corticotropin releasing hormone) kortykoliberyna
- 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
- DSM – IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder -IV) Przewodnik diagnostyczny i statystyczny zaburzeń psychicznych – wersja IV
- E1 – (estrone) estron
- E2 – (17  $\beta$  -estradiol) 17  $\beta$  -estradiol
- E3 – (estriol) estriol
- ED – (ejction duration) czas wyrzutu krwi z lewej komory serca
- ELISA – (enzyme-linked immunosorbent assay) test immunoenzymosorbcyjny
- ER – (estrogen receptor) receptor estrogenowy
- FHA – (functional hypothalamic amenorrhea) czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki
- FMD – (flow mediated dilation) rozkurcz naczyń zależny od przepływu
- FSH – (follicle-stimulating hormone) folikulotropina
- ft3 – (free triiodothyronine) wolna trijodotyronina

- FT4 – (free thyroxine) wolna tyroksyna
- GnRH – (Gonadotropin releasing hormone) gonadoliberyna
- HDL – (high density lipoprotein – cholesterol) frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o wysokiej gęstości
- HOMA – (homeostasis model assessment) homeostatyczny model oceny
- IL6 – (interleukin 6) interleukina 6
- LDL – (low density lipoprotein – cholesterol) frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o niskiej gęstości
- LH – (luteinizing hormone) lutropina
- MBP – (mean blood pressure) średnie ciśnienie krwi
- NADH – (nicotinamide adenine dinucleotide) dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy
- NO – (nitric oxide) tlenek azotu
- NOS – (nitric oxide synthase) syntaza tlenku azotu
- NPY – (neuropeptide Y) neuropeptyd Y
- 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
- PR-A – (progesterone receptors – A) receptory progesteronowe typu A
- PR-B – (progesterone receptors – B) receptory progesteronowe typu B
- PRL – (prolactin) prolaktyna
- 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
- PWV – (pulse wave velocity) prędkość fali tętna
- RAA – (renin-angiotensin-aldosterone) renina-angiotensyna-aldosteron
- rT3 – (revers triiodothyronine) rewers trijodotyronina
- SD – (standard deviation) odchylenie standardowe
- SVAM-1 - (soluble vascular adhesion molecule-1) rozpuszczalna adhezyna naczyniowa 1
- TCh – (total cholesterol) cholesterol całkowity



- TG – (triglycerides) trójglicerydy
- TNF  $\alpha$  – (tumor necrosis factor  $\alpha$ ) czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$
- TSH – (thyrotropic hormone) tyreotropina
- VCAM-1 – (vascular cellular adhesion molecule -1) komórkowa adhezyna naczyniowa 1
- VEGF – (vascular endothelial growth factor) czynnik wzrostu śródbłonna naczyń

# 1 WSTĘP

---

## 1.1 PODWZGÓRZOWY CZYNNOŚCIOWY BRAK MIESIĄCZKI (FHA) – DEFINICJA, EPIDEMIOLOGIA

Podwzgórzowy czynnościowy brak miesiączki (z ang. *functional hypothalamic amenorrhea* – FHA) jest odwracalnym zaburzeniem układu wydzielania wewnętrznego, które charakteryzuje nieprawidłowa czynność podwzgórza prowadząca do zahamowania osi podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalnej i wtórnego braku miesiączki u uprzednio prawidłowo miesiączkującej kobiety [1,2]. Wtórny brak miesiączki definiowany jest jako brak miesiączki przez okres 3 miesięcy u nieciążarnej kobiety, u której wcześniej występowały regularne miesiączki. Niektórzy autorzy sugerują rozpoznanie dopiero po 6 miesiącach *amenorrhea* [2].

Istotą odróżnienia postaci czynnościowej podwzgórzowego braku miesiączki jest brak zaburzeń organicznych lub anatomicznych osi podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowej [3]. W niedoczynności podwzgórza na tle organicznym dochodzi do uszkodzenia jąder podwzgórza odpowiedzialnych za wydzielanie gonadoliberyny (GnRH) przez guzy, urazy lub procesy zapalne. Znane przypadki warunkowane genetycznie, często o charakterze dziedzicznym, występują w następstwie mutacji genów odpowiedzialnych za syntezę białek receptorowych, czynników wzrostu lub czynników będących tzw. drugimi przekaźnikami w ośrodkach podwzgórza lub ponadpodwzgórzowych. Szczególnym dziedzicznym przypadkiem FHA jest zaburzenie migracji neuronów wydzielających GnRH (zespół Kallmana) [2]. Obok różnej etiologii, czynnościowe choroby podwzgórza odróżniają się od innych postaci najczęściej odwracalnym charakterem zaburzeń.

Do rozwoju FHA dochodzi w wyniku działania silnych impulsów stresowych w postaci:

1. Ujemnego bilansu energetycznego związanego ze znaczną utratą masy ciała.
2. Ujemnego bilansu energetycznego związanego z nadmiernym wysiłkiem fizycznym.
3. Stresu psychicznego.

W zależności od przyczyny wyróżnia się więc 3 postaci FHA [2,4]. W wielu przypadkach stwierdza się współwystępowanie co najmniej 2 czynników jednocześnie, lecz co warto podkreślić, FHA nie występuje wyłącznie u osób z niedożywieniem. Wiele miejsca w literaturze poświęca się szczególnemu przypadkowi FHA, czyli „triadzie atletycznej”. W jednostce tej brakowi miesiączki współtowarzyszy ujemny bilans energetyczny związany z wysiłkiem fizycznym oraz osteoporoza oraz niekiedy zaburzenia odżywiania [2, 5, 6].

W literaturze częstość FHA jest różnie określana i brak jest jednoznacznych danych epidemiologicznych w tym zakresie. Szacuje się, że FHA odpowiada za 15-35% przypadków wtórnego

braku miesiączki [1,2]. Wtórny brak miesiączki występuje z kolei u ok. 3-5% populacji kobiet. W Polsce, FHA jest uważana za najczęstszą przyczynę wtórnego braku miesiączki [1,4,7]. Rzadziej, gdyż w ok. 10% przypadków jest przyczyną pierwotnego braku miesiączki [7]. Występowanie FHA jest ściśle powiązane z ujemnym bilansem energetycznym, stąd stwierdza się zwiększoną zapadalność u osób uprawiających intensywny trening fizyczny oraz będących na diecie redukcyjnej. W jednym z badań stwierdzono, że u kobiet które określają swoją aktywność fizyczną jako intensywną FHA dotyka 5-10% z nich. Wśród zawodowych sportswomenek zapadalność jest jeszcze wyższa i może wynosić 40-50% [8,9].

## 1.2 ZABURZENIA NEUROENDOKRYNNE W PODWZGÓRZOWYM CZYNNOŚCIOWYM BRAKU MIESIĄCZKI

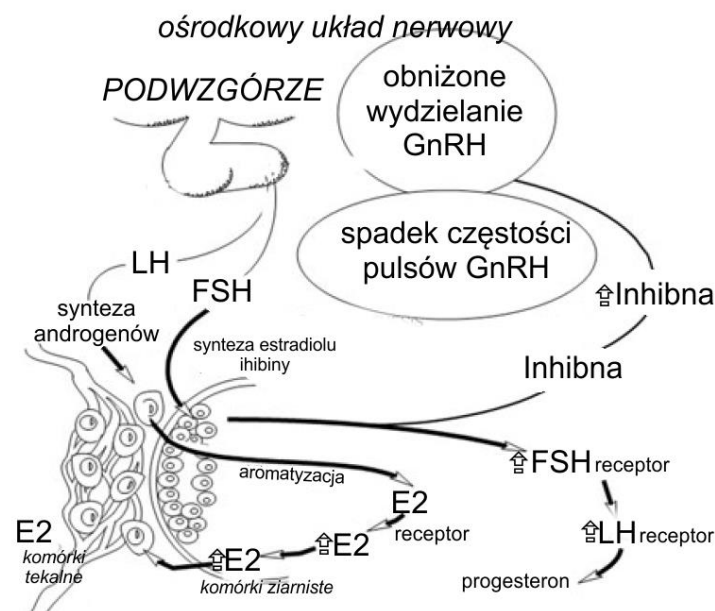
Szczegółowa patogeneza FHA nie jest dokładnie poznana, podobnie jak nie do końca poznano podstawy fizjologiczne działania osi podwzgórzowo-przysadkowej oraz generatora pulsów GnRH.

Gonadoliberyna jest dekapeptydem, wydzielanym głównie przez neurony skupione w dwóch jądrach podwzgórza: jądrze łukowatym oraz przedwzrokowym. Aksony neuronów z tych okolic sięgają do wyniosłości pośrodkowej, gdzie kontaktują się z naczyniami krążenia wrotnego podwzgórzowo-przysadkowego [10]. W warunkach fizjologicznych, w okresie reprodukcyjnym, GnRH wydzielane jest w sposób pulsacyjny, w fazie folikularnej pulsy te występują co około 60-90 minut, w fazie lutealnej natomiast rzadziej, co 120-360 minut. Prawidłowe wydzielanie pulsacyjne stymuluje w fazie pęcherzykowej wydzielanie FSH, natomiast rosnąca częstotliwość wydzielania przed owulacją stymuluje wydzielanie LH [10].

W literaturze dotyczącej FHA wskazuje się na nieprawidłową częstotliwość wydzielania GnRH, zbyt małą amplitudę pulsów oraz całkowity brak wydzielania GnRH [3,4]. W postaciach czynnościowych, najistotniejszym zaburzeniem wydaje się spadek częstości pulsów GnRH. Wydłużenie odstępów czasowych wydzielania ponad typowe dla fazy folikularnej cyklu 90-120 minut, do 180 lub więcej minut prowadzi do zmniejszenia uwalniania gonadotropin z przysadki. Badania doświadczalne wykazały obniżone średnie stężenia LH, prawidłową amplitudę pulsów LH oraz obniżoną niemal o połowę (z 12 do 7 na dobę) liczbę pulsów LH u kobiet z FHA [11,12]. Niedobór gonadotropin skutkuje z kolei brakiem impulsów (głównie FSH) do rozwoju pęcherzyków jajnikowych, procesu selekcji pęcherzykowej (FSH i LH) oraz owulacji (głównie LH) [2,3]. Zahamowanie follikulogenezy prowadzi w rezultacie do supresji jajnikowej syntezy estradiolu, która w normalnych warunkach zachodzi intensywnie w pęcherzyku po procesie selekcji, przy udziale komórek tekalnych i ziarnistych. Brak owulacji natomiast, skutkuje brakiem ciała żółtego i syntezy progesteronu. Patologia jajnikowa przekłada się jednocześnie na endometrium. Brak rosnących stężeń estradiolu hamuje fazę proliferacji endometrium, a brak progesteronu uniemożliwia przejście w fazę sekrecyjną. W konsekwencji pojawia się wtórny brak miesiączki [2,11,12]. Omawianą sekwencję zdarzeń przedstawiono schematycznie na

rycinie (Rycina 1-1). Przejście od regularnego cyklu do wtórnego braku miesiączki może wiązać się z „okresem przejściowym” z zaburzoną fazą lutealną, fazą rzadkiego miesiączkowania (*oligomenorrhea*), aż do zahamowania cyklu (*amenorrhea*) [3].

Patogeneza FHA nie jest w pełni poznana, niemniej w ostatnim czasie zbadano wiele aspektów tego schorzenia. U pacjentek z podwzgórzycą stwierdzono zaburzenia dotyczące wielu hormonów, neuropeptydów i neurosterydów. Wydaje się, że szczególnie istotne w patomechanizmie są mediatory biorące udział w regulowaniu odpowiedzi na czynniki stresowe regulacji głodu i sytości: leptyna, grelina,  $\beta$ -endorfina, serotonina, neuropeptyd Y (NPY), kortykoliberyna (CRH), aminy katecholowe oraz wiele innych [1,2,3,4]. Najnowsze badania wskazują, że istotną rolę w patogenezie zaburzeń wydzielania GnRH może odgrywać upośledzona czynność neuronów Kiss (wydzielających kisspeptynę) [2,3]. Poniżej przedstawiono krótką charakterystykę poszczególnych zaburzeń.



Rycina 1-1. Schemat zaburzeń neuroendokrynnych w podwzgórzowym czynnościowym braku miesiączki, zmodyfikowano za [3]

### 1.2.1 Układy neurohormonalne regulacji głodu i sytości

Najnowsze dane z piśmiennictwa wskazują, że neurohormony zaangażowane w regulację głodu i sytości, pełnią kluczową rolę w patogenezie FHA. Do najlepiej zbadanych mediatorów należą: leptyna,  $\alpha$ -melanokortyna, grelina, NPY, białko agouti (AGRP).

Leptyna jest wydzielana przez tkankę tłuszczową w ilościach proporcjonalnych do ilości i wielkości adipocytów. Jest sygnalizatorem sytości w jądrze łukowatym podwzgórza, które w odpowiedzi wydziela  $\alpha$ -melanokortynę, co pobudza jądro okołokomorowe. Dodatkowo leptyna hamuje wydzielanie innego ważnego regulatora głodu – NPY [13]. W licznych badaniach dowiedziono,

że u pacjentek z FHA stwierdza się znaczną hipoleptynię. Obniżone stężenia leptyny z kolei, działają hamująco (pośrednio i bezpośrednio) na neurony wydzielające GnRH [14,15]. Wykazano, że podawanie leptyny u pacjentek z FHA może stymulować działanie osi podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowej u pacjentek z FHA [15].

Neuropeptyd Y jest kolejnym obok leptyny i  $\alpha$ -melanokortyny ważnym neuropeptydem uwalnianym przez jądro przykomorowe podwzgórza, którego główną rolą jest regulacja uczucia głodu. Neuropeptyd Y jest jednym z głównych stymulatorów apetytu, ale bierze też udział w regulacji wydzielania GnRH. W wielu doświadczeniach wykazano, że może działać stymulująca na sekrecję GnRH oraz gonadotropin, szczególnie LH. Stosunkowo niedawno wykazano, że neurony GnRH posiadają receptory dla NPY [16]. U pacjentek z FHA stwierdzono obniżone stężenia NPY, a wzrastające stężenia tego neurohormonu w surowicy są dobrym prognostykiem powrotu prawidłowych cykli miesięczkowych w tej grupie chorych [17,18].

### 1.2.2 Oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa

Oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa nazywana jest często „osią stresu” i odpowiada w dużej mierze za somatyczne reakcje na stresory środowiskowe oraz psychogenne. Głównymi efektorami odpowiedzi stresowej są nadnercza wydzielające kortyzol oraz katecholaminy (adrenalinę i noradrenalinę). Środowiskowe czynniki stresujące przyczyniają się do aktywacji tej osi, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększonym wydzielaniu CRH, hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), proopiomelanokortyny (POMC) oraz kortyzolu [3,4,11,19,20]. Wykazano jednoznacznie, że CRH oraz kortyzol w sposób zależny od dawki hamują aktywność przyśrodkowo-podstawnych jąder podwzgórza wydzielających GnRH [12,20]. Poziom, przy którym stresory aktywują oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową oraz „podatność” neuronów wydzielających GnRH na inhibicję, są cechą indywidualną. CRH może także hamować sekrecję GnRH pośrednio poprzez stymulowanie wydzielania  $\beta$ -endorfin. Wykazano także, że przewlekła hiperkortyzolemia wykazuje efekt neurotoksyczny na jądra podwzgórza, co może skutkować przetrwałym zahamowaniem wydzielania GnRH [19,20].

Zwiększona aktywność osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej może być uwarunkowana różnymi czynnikami stresowymi, takimi jak niedobór energetyczny, stres psychospołeczny, wysiłek oraz poczucie izolacji [21]. U kobiet z FHA stwierdza się podwyższone stężenia hormonów odpowiedzialnych za regulację czynności nadnerczy (CRH, ACTH), jak również samego kortyzolu. Ponadto występuje zwiększona odpowiedź nadnerczy na stymulację ACTH [22,23]. Wysokie stężenie kortyzolu jest negatywnym predyktorem samoistnego powrotu czynności osi podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalnej u pacjentek z FHA [8]. Dodatkowo, wykazano że wzmożona aktywność „osi stresu”, w szczególności stężenia CRH działają hamująco na ośrodki łaknienia. Stąd w

sytuacji przyspieszonej utraty masy ciała, rosnące stężenia CRH wynikające z sytuacji stresowej jaką jest głodzenie, dodatkowo hamują jego odczuwanie. Jest to jeden z przykładów zachodzenia na siebie różnych przyczyn FHA [24,25,26].

### 1.2.3 Oś podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowa

Niektórzy autorzy wykazali zaburzoną czynność układu przysadkowo-tarczycowego u pacjentek z FHA. W szczególności stwierdzono obniżone w stosunku do populacji ogólnej stężenia TSH w surowicy, przy niższych stężeniach wolnej trijodotyroniny (fT3). U pacjentek tych występuje, typowe dla chorób przewlekłych i głodzenia, zjawisko obwodowej dezaktywacji tyroksyny do nieaktywnego rewers T3 (rT3) [20]. Niektórzy autorzy sugerują, że zmiany w czynności tarczycy odzwierciedlają zaburzony „poziom czułości” podwzgórza charakteryzujący się brakiem aktywności tyreoliberynowej mimo niedoczynności tarczycy [27].

## 1.3 WPŁYW CZYNNOŚCIOWEGO PODWZGÓRZOWEGO BRAKU MIESIĄCZKI NA ZDROWIE KOBIETY

Liczne zaburzenia neurohormonalne u pacjentek z FHA (zaburzenia osi gonadalnej, nadnerczowej, tarczycowej) współistniejące z czynnikami stresowymi (ujemny bilans energetyczny, stres psychiczny) mają ogromny wpływ na homeostazę. Czynniki te działają synergistycznie, wywołując znaczne zaburzenia nie tylko w układzie rozrodczym, ale również w innych, jak np. sercowo-naczyniowym, kostnym lub nerwowym. Najważniejsze konsekwencje wymieniono w tabeli (Tabela 1-1).

Konsekwencje ogólnoustrojowe	Układ rozrodczy
<b>Osteopenia/osteoporoza</b>	Anowulacja, niepłodność
<b>Zaburzenia psychiczne</b>	Poronienie
<b>Wpływ neurodegeneracyjny</b>	Poród przedwczesny
<b>Upośledzenie poznawcze</b>	Ograniczenie wzrostu wewnątrzmacicznego
<b>Choroby sercowo-naczyniowe</b>	Zaburzony neurorozwoj płodu

Tabela 1-1. Konsekwencje czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki, na podstawie [2,3]

### 1.3.1 Wpływ na układ nerwowy, zaburzenia psychiczne i seksualne

Czynność układu nerwowego, czynności psychiczne oraz poznawcze mogą być modyfikowane przez stężenia steroidów płciowych, w szczególności estradiolu. Wykazano, że hipolestrogenizm u

młodych kobiet jest związany ze zmianą poziomów licznych neuroprzekaźników w ośrodkowym układzie nerwowym, zwłaszcza serotoniny, dopaminy oraz allopregnenolonu [28].

W FHA występują liczne zaburzenia dotyczące czynności psychicznych oraz popędu seksualnego. Wykazano u tych pacjentek tendencje introwertyczne, zaburzenia lękowe, zaburzenia funkcjonowania społecznego oraz nastroju [29]. Pacjentki wykazują tendencję do depresji, oraz cechy zachowań obsesyjno-kompulsywnych, często dotyczących sfery odżywiania i masy ciała. Dochodzi też do upośledzenia czynności seksualnej, obniżenia libido, dyspareunii oraz anorgazmii [30, 31]. Zaburzenia w tej sferze życia związane są w dużej mierze, z wyżej wymienionymi problemami psychologicznymi [29]. Współistniejący hipolestrogenizm i hipooandrogenemia wywierają dodatkowy negatywny wpływ na narządy płciowe i pociąg seksualny [32].

U kobiet z FHA stwierdza się podwyższone stężenia kortyzolu w płynie mózgowo-rdzeniowym, co może predysponować tę grupę do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, demencji oraz innych zaburzeń w czynności ośrodkowego układu nerwowego [33]. Hipolestrogenizm u kobiet przed menopauzą jest znanym, niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju demencji, choroby Parkinsona oraz depresji [34].

### 1.3.2 Wpływ na układ kostno-szkieletowy

Istnieją liczne dane wskazujące znaczne obniżenie gęstości mineralnej kości (BMD) o ok. 2-7% u kobiet z FHA, stwierdzonego w badaniu densytometrycznym okolicy kręgosłupa, biodra oraz całego ciała [35,36,37]. Christo i wsp. [38] wykazali, że u 38% kobiet z triadą atletyczną wartości BMD są niższe o wartość co najmniej jednego odchylenia standardowego w stosunku do zdrowej populacji dobranej pod względem wieku (indeks Z). W badaniach rezonansu magnetycznego stwierdzono, że obniżona masa kostna wiąże się z utratą zarówno kości gąbczastej, jak i kortykalnej. Misra i wsp. [39] wykazali, że obniżona masa kostna u dziewcząt z ujemnym bilansem energetycznym i wtórnym brakiem miesiączki jest wynikiem zmniejszenia beleczek kości gąbczastych oraz ścieńczenia kości zbitnej. W badaniu tym stwierdzono znacznie zmniejszoną zawartość mineralną kości w odcinku lędźwiowym kręgosłupa skorygowaną względem powierzchni kości. Co ciekawe nie wykazano by zawartość mineralna kości była zmniejszona w analogicznej analizie całego szkieletu [40]. Częstość osteopenii u kobiet z FHA jest zdecydowanie wyższa w stosunku do populacji ogólnej i w zależności od autorów wynosi od 2-50%. Osteoporoza rozpoznawana jest rzadziej, w około 2-20% przypadków [41,42,43]. Występowanie złamań również jest zwiększone w stosunku do zdrowej populacji, szacuje się że od 2 do 4 razy w stosunku do grupy dobranej pod względem wieku [5, 6].

## 1.4 WPŁYW STEROIDOWYCH HORMONÓW JAJNIKA NA UKŁAD SERCOWO-NACZYNIOWY

### 1.4.1 Estrogeny

Estrogeny wydzielane w okresie rozrodczym przez jajnik to: (1) 17 $\beta$ -estradiol (E2) – najbardziej aktywny steroid, pochodzący w >90% z komórek ziarnistych; (2) estron (E1) – pochodzący głównie z obwodowej aromatyzacji androstendionu oraz (3) estriol (E3) – syntetyzowany w łożysku [44]. Estron ma istotne działanie biologiczne głównie u kobiet w wieku postmenopauzalnym, natomiast E3 oraz produkowany tylko przez łożysko estetrol, u kobiet w ciąży. Najważniejszym estrogenem w wieku rozrodczym jest E2, którego stężenia w surowicy cyklicznie zmieniają się w zależności od fazy cyklu, osiągając maksimum (w zakresie 150-400 pg/ml) około 2 dni przed owulacją [44].

Działanie estrogenów odbywa się poprzez specyficzne receptory estrogenowe  $\alpha$  i  $\beta$  (ER $\alpha$  i ER $\beta$ ), których ekspresję zidentyfikowano w wielu rodzajach komórek i tkanek. Większość mediowanych przez te receptory aktywności ma związek z czynnością układu rozrodczego. Estrogeny odpowiadają za rozwój drugo- i trzeciorzędowych cech płciowych, są niezbędne w rozwoju pęcherzyka, odpowiadają za stymulację proliferacji endometrium, mammo- i laktogenezę [44]. W wielu badaniach wykazano, że estrogeny są ważnymi regulatorami czynności układu sercowo-naczyniowego. W komórkach ściany naczyń stwierdzono ekspresję genów jądrowych receptorów estrogenowych: ER $\alpha$  – dominujący w komórkach mięśniowych oraz ER $\beta$  – w komórkach śródbłonna. Estrogeny mogą również wywoływać efekty niegenomowe, tzw. szybkie [45].

#### 1.4.1.1 *Efekty genomowe estrogenów w układzie krążenia*

Estrogeny stymulują podziały komórek śródbłonna, natomiast w przeciwieństwie do androgenów mają działanie antyproliferacyjne w stosunku do miocytów ściany naczyń [46]. Wykazano regulujący wpływ tej grupy steroidów na ekspresję wielu genów w komórkach śródbłonna, między innymi cyklooksygenazy, syntazy prostacyklinowej, syntazy NO (NOS, *nitric oxide synthase*), kolagenu, elastyny, metaloproteinaz, enzymów związanych z syntezą antyoksydantów i innych [47,48]. W miocytach hamują syntezę receptora angiotensynogenowego 1 (AT1R). Stymulowanie syntezy antyoksydantów, NO oraz działanie antyproliferacyjne i przeciwzapalne przekładają się na działanie przeciwmiażdżycowe oraz wazodylatacyjne. Z drugiej strony, niektóre efekty genomowe modulowane przez receptory ER $\beta$  mogą nasilać aterogenezę oraz destabilizować istniejące zmiany miażdżycowe (wzrost syntezy metaloproteinaz) [49,50].

#### 1.4.1.2 *Efekty niegenomowe estrogenów w układzie krążenia*

Efekty niegenomowe nie wymagają zmiany ekspresji genów komórki docelowej, stąd są wywierane dynamicznie, poprzez receptory błonowe. Wykazano, że komórki śródbłonna wydzielają w



odpowiedzi na stymulację estrogenową NO przyczyniając się do rozszerzenia naczyń. Działają bezpośrednio relaksacyjnie na komórki mięśni gładkich naczyń wieńcowych poprzez modulację aktywności kanałów wapniowych, zmniejszając stężenie wapnia w płynie wewnątrzkomórkowym miocytów [51]. Wpływ estrogenów na układ sercowo-naczyniowy wywierany też jest w dużej mierze poprzez modulację odpowiedzi immunologicznej. Endogenne estrogeny wywierają efekt przeciwzapalny poprzez regulację rekrutacji leukocytów, „wymiatanie” wolnych rodników i hamowanie oksydacji lipoprotein osocza [52].

#### 1.4.1.3 *Efekty kliniczne i in vivo działania estrogenów*

Większość badań wskazuje na pozytywny wpływ endogennych estrogenów na układ sercowo-naczyniowy u kobiet w wieku rozrodczym. Epizody niedokrwienia mięśnia sercowego zdarzają się częściej u młodych kobiet na początku cyklu, kiedy stężenia E2 są niskie [53,54]. Synteza NO rośnie natomiast w okresie przedowulacyjnym cyklu, kiedy stężenia E2 osiągają maksimum w cyklu [55]. Wpływ na pracę serca objawia się zwiększeniem pojemności minutowej oraz jego efektywności wyrażonej wzrostem frakcji wyrzutowej [56]. Działanie przeciwzapalne wyraża się m.in. poprzez spadek średnich stężeń białka C-reaktywnego (CRP) oraz innych czynników zapalnych w surowicy młodych kobiet w fazach cyklu charakteryzujących się wysokimi stężeniami estradiolu [57].

Mimo że *in vivo* całkowity efekt działania estrogenów wydaje się pozytywny, to w pewnych warunkach, przy przedłużonym podawaniu u starszych kobiet po menopauzie, odwraca się on na niekorzyść. Dowiodły tego przede wszystkim badania oceniające bezpieczeństwo hormonalnej terapii zastępczej (*Women's Health Initiative* i *Million Women Study*), gdzie wykazano szkodliwość suplementacji hormonalnej u kobiet wiele lat po menopauzie [58,59].

Zgodnie ze stanowiskiem Europejskiego Towarzystwa Rozrodczości Człowieka i Embriologii (*European Society for Human Reproduction & Embryology* - ESHRE) uważa się, że estrogeny działają ochronnie na naczynia przed i na wczesnych etapach rozwoju blaszki miażdżycowej, gdy jednak proces już się rozwinie przyczyniają się do jego progresji [59].

#### 1.4.2 Progesteron

Progesteron, podobnie jak estrogeny oddziałuje poprzez dwa receptory jądrowe i błonowe: A i B [44]. Jest wytwarzany przede wszystkim przez ciało żółte w fazie lutealnej cyklu, w ilości sięgającej do 50 mg/dobę. W fazie folikularnej jego synteza zachodzi intensywnie w nadnerczach, ale służy w zdecydowanej większości jako substrat do biosyntezy innych hormonów steroidowych. Największe stężenia progesteronu występują fizjologicznie w ciąży, gdzie jest syntetyzowany przez łożysko we wzrastających z czasem jej trwania ilościach, od 100 mg/ dobę do 300 mg/dobę [44]. Działanie biologiczne jest związane głównie z przemianą sekrecyjną oraz doczesną błonę śluzowej macicy.

Progesteron ma też wpływ na tempo przemian metabolicznych, regulację temperatury, czynność ośrodkowego układu nerwowego. Uważany jest też za ważny czynnik immunomodulujący, odpowiedzialny za tolerancję immunologiczną w okresie ciąży.

Dane dotyczące wpływu samego progesteronu na układ krążenia są stosunkowo ubogie i pochodzą głównie z doświadczeń przeprowadzonych na zwierzętach lub *in vitro*.

W ścianie naczyń stwierdzono obecność obu typów (A i B) receptora progesteronowego, jednak na podstawie dostępnych danych nie można stwierdzić, który odgrywa większą rolę [60-63]. Do efektów „genomowych” należy hamujący wpływ zarówno na proliferację komórek śródbłonna, jak i mięśniówki [60, 61]. W przeciwieństwie do estrogenów zwiększa on ekspresję receptora AT1R [62]. Pobudzenie receptorów progesteronu wpływa również na ekspresję cyklooksygenaz (COX 1 i 2), co zwiększa syntezę prostacykliny i powoduje zwiększenie światła naczyń [63].

Do „niegenomowych” efektów działania progesteronu należy prawdopodobnie stymulacja NOS, choć dane są w tym przypadku rozbieżne [64]. Wykazuje działanie natriuretyczne, hipotensyjne oraz hamuje wazokonstrykcję naczyń wieńcowych. Zaobserwowano też skrócenie czasu trwania potencjału czynnościowego. Przekłada się to na zmniejszenie ryzyka wystąpienia arytmii typu *torsade de pointes* u osób z zespołem długiego-QT [65].

## 1.5 WPŁYW CZYNNOŚCIOWEGO PODWZGÓRZOWEGO BRAKU MIESIĄCZKI NA UKŁAD SERCOWO NACZYNIOWY

### 1.5.1 Zaburzenia czynności śródbłonna

Wiele danych dotyczących wpływu FHA na czynność układu krążenia pochodzi z badań nad pacjentkami z triadą atletyczną. W jednostce tej obok zaburzeń cyklu stwierdza się ujemny bilans energetyczny oraz obniżenie BMD. Niektórzy autorzy sugerują, że dysfunkcja śródbłonna naczyniowego jest kolejną, konstytucyjną komponentą tego zespołu [68].

Złotym standardem w badaniach czynności śródbłonna stała się technika ultrasonograficznego pomiaru średnicy tętnicy ramiennej w zależności od przepływu utlenowanej krwi. Pomiaru wykonuje się w stanie podstawowym oraz w fazie przekrwienia związanego z czasowym zamknięciem przepływu tętniczego poprzez mankiet do pomiaru ciśnienia, stąd technika nazywa się pomiarem rozkurczu naczynia zależnego od przepływu (*flow-mediated dilation* [FMD]). Dowiedziono w wielu badaniach, że wyniki tego badania dobrze korelują z zaburzeniami śródbłonna naczyń wieńcowych (wartość predykcyjna 95%) oraz częstością incydentów sercowo-naczyniowych [66, 67]. Wykazano, że sportsmenki z wtórnym brakiem miesiączki mają gorsze wyniki badania FMD, niż pacjentki poddane

treningowi, u których miesiączki były prawidłowe [68]. Hoch i wsp. [69] stwierdzili np. że u profesjonalnych baletnic 64% pacjentek z zaburzeniami miesiączkowania wykazywało zaburzenia czynności śródbłona w badaniu FMD. W grupie *eumenorrhea* odsetek ten wynosił 14%, co autorzy badania wiążą z zaburzeniami odżywiania i zaburzeniami metabolicznymi wśród dziewcząt uprawiających balet.

Ważnych wniosków dostarczyły też wyniki badań nad zastosowaniem suplementacji estrogenowej wśród dziewcząt z triadą atletyczną. Dziewięciomiesięczne podawanie antykoncepcji hormonalnej (30 µg etynylestradiolu i 150 µg lewonorgestrelu) wywierało pozytywny wpływ na czynność śródbłona w tętnicy ramiennej. Rozkurcz naczyń zależny od przepływu wzrósł podczas stosowania antykoncepcji z  $1,42 \pm 0,98\%$  do  $4,88 \pm 2,2\%$  [70]. Warto zaznaczyć, że wskaźnik wzrostu średnicy naczyń po zastosowaniu antykoncepcji mieści się w dolnym zakresie normy FMD u osób młodych (norma to ok. 5-15%).

Zaburzenia czynności śródbłona u kobiet z FHA w triadzie atletycznej wynikają prawdopodobnie głównie ze zmniejszonej dostępności NO w ścianie naczyń związanej z głębokim hipoestrogenizmem [68]. Inne przyczyny tego stanu to występujące u kobiet z FHA, uogólniona odpowiedź zapalna oraz zwiększony stres oksydacyjny.

### 1.5.2 Reakcja zapalna

Przewlekłe utrzymująca się reakcja zapalna jest ważnym czynnikiem sprawczym dla zaburzeń czynności śródbłona oraz miażdżycy. W wielu badaniach epidemiologicznych stwierdzono protekcyjną rolę estrogenów wobec naczyniowej reakcji zapalnej. U kobiet z hipoestrogenizmem i zaburzeniami miesiączkowania wykazano negatywną korelację między stężeniami rozpuszczalnej adhezyny naczyniowej 1 (SVAM-1, marker reakcji zapalnej) oraz FMD [70]. Nie wykazano by inne markery zapalne: komórkowa adhezyna naczyniowa 1 (VCAM-1), CRP, czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) i interleukina 6 (IL6) występowały w podwyższonych stężeniach u pacjentek z FHA czy triadą atletyczną [70]. Sugeruje to brak wpływu samej hipoestrogenemii na rozwój reakcji zapalnej. Odróżnia to młode kobiety z hipoestrogenizmem od kobiet po menopauzie, u których niskie stężenia estradiolu korelują z markerami zapalenia. Różnice tę tłumaczy się odmiennym profilem metabolicznym. Kobiety z FHA charakteryzuje prawidłowa lub obniżona masa ciała oraz stan hipometabolizmu. Znana jest ochronna rola diety redukcyjnej oraz wysiłku fizycznego dla rozwoju przewlekłej reakcji zapalnej. Restrykcja kaloryczna wiąże się z nasiloną syntezą glikokortykosteroidów i greliny, które wykazują aktywność przeciwzapalną [70]. Ten unikalny profil neuroendokryny oraz ujemny bilans energetyczny jest prawdopodobnie kluczowy dla wyjaśnienia odmiennego związku między hipoestrogenizmem, a stanem zapalnym u kobiet z FHA i kobiet po menopauzie.

### 1.5.3 Profil lipidowy

Wysiłek fizyczny oraz dieta redukcyjna, które są częstymi czynnikami etiologicznymi w FHA, wywierają pozytywny wpływ na profil lipidowy. Hipoestrogenizm natomiast predysponuje do aterogenego metabolizmu lipidów, charakteryzującego się wzrostem stężeń lipoprotein niskiej gęstości (LDL) oraz spadkiem stężeń lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) [72,73]. W FHA współistnieją oba te przeciwstawne czynniki, jednak większość danych eksperymentalnych wskazuje na dominację czynników aterogennych.

U kobiet z triadą atletyczną stwierdza się umiarkowanie podwyższone stężenia LDL w osoczu. Charakterystyczna jest też zwiększona podatność na oksydację tej frakcji cholesterolu w odpowiedzi na ćwiczenia fizyczne [68]. Stężenia osoczewego cholesterolu LDL wykazują u pacjentek z FHA ujemną korelację z FMD, czyli zakłócają czynność śródbłonna naczyniowego [71]. Obok zaburzeń metabolizmu LDL, u kobiet z FHA opisywano podwyższone stężenia całkowitego cholesterolu (TCh), apolipoproteiny B oraz triglicerydów (TG), w stosunku do kobiet prawidłowo miesiączkujących [72,73]. Co ciekawe, opisywane zwiększone stężenia w większości przypadków nie przekraczały powszechnie przyjętych zakresów norm dla poszczególnych frakcji. W wielu badaniach wykazano wzrost średnich stężeń frakcji HDL u pacjentek z FHA. Podwyższone stężenia HDL, który służy redystrybucji cholesterolu, mają działanie antyaterogenne. Wzrost ten tłumaczy się głównie ograniczeniem kalorycznym oraz zwiększoną aktywnością fizyczną w tej grupie pacjentek [74]. Nie wiadomo jednak na ile podwyższone osocze stężenia HDL mogą równoważyć negatywny, aterogeny wpływ zwiększonych frakcji LDL, TCh i TG.

### 1.5.4 Regulacja autonomiczna układu sercowo-naczyniowego w podwzgórzowym czynnościowym braku miesiączki

Regularny tlenowy wysiłek fizyczny u zdrowych kobiet łączy się ze zmniejszeniem spoczynkowej czynności serca (spadek pulsu) oraz spadkiem spoczynkowego tętniczego ciśnienia krwi. Uważa się, że te zmiany spowodowane są zwiększoną impulsacją z nerwu błędnego, zmniejszeniem stymulacji z układu współczulnego oraz zmniejszoną aktywnością układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) [74,75]. Podobne zmiany w spoczynkowej czynności serca oraz ciśnieniu zaobserwowano w jednym badaniu nad kobietami z FHA związanym z nadmiernym wysiłkiem fizycznym. W grupie kobiet z wtórnym brakiem miesiączki (3 miesiące) średnia czynność serca wynosiła  $51,9 \pm 2,2$ /min.; w grupie z przedłużającym się wtórnym brakiem miesiączki (9 miesięcy)  $46,3 \pm 1,9$ /min., a u kobiet z *eumenorrhea* z podobnym obciążeniem ćwiczeniami  $56,6 \pm 2,1$ /min. Istotność statystyczną stwierdzono tylko w porównaniu grupy kontrolnej z kobietami z FHA przez co najmniej 9 miesięcy. W tym samym doświadczeniu zaobserwowano również istotną różnicę w skurczowym ciśnieniu tętniczym dla pacjentek z przedłużającym się wtórnym brakiem miesiączki ( $96,4 \pm 1,5$  mmHg w grupie badanej vs.

105,3±1,6 mmHg w grupie kontrolnej) [75]. Nie wykazano natomiast różnic w średnim ciśnieniu krwi oraz ciśnieniu tętna. Cytowane badanie niestety ma ograniczoną wiarygodność ze względu na małą liczebność grup badanych (włączono 18 pacjentek), jednak jest jednym z nielicznych dostępnych doniesień na ten temat.

Modulację układu krążenia przez autonomiczny układ nerwowy badano też poprzez analizę odruchów z baroreceptorów. Baroreceptory tętnicze stymulowane poprzez wzrastające ciśnienie krwi hamują impulsację współczulną, co powoduje reaktywną wazodylatację oraz bradykardię. Dane dotyczące czynności odruchu z baroreceptorów tętniczych w FHA są równie skąpe jak w przypadku czynności serca i pochodzą z pojedynczych badań. Wyniki przedstawione przez Wenner i wsp. [76] wskazują na zachowaną prawidłową odpowiedź układu krążenia na próbę Valsalvy oraz test ortostatyczny. Oznacza to zachowaną odpowiedź na stymulację baroreceptorów. Wyniki te trzeba jednak interpretować ostrożnie, gdyż pochodzą z analizy jedynie 13 kobiet z FHA. Wydaje się, że w przypadku odpowiedzi baroreceptorów równoważą się: negatywny wpływ hipostrogenemii (stwierdzony np. u kobiet w wieku premenopauzalnym) oraz pozytywne działanie diety i aktywności fizycznej (stwierdzone w wielu badaniach na ludziach i zwierzętach) [77,78].

#### 1.5.5 Dane kliniczne

Bairey Merz i wsp. [79] analizowali stężenia hormonów płciowych w grupie 95 kobiet w wieku przedmenopauzalnym (średnio 43±6 lat; zakres 21-54 lat) poddawanych koronarografii. Wykazano, że hipostrogenizm pochodzenia podwzgórzowego (definiowany jako stężenie E2 < 50 pg/ml; FSH i LH < 10 IU/L) występował znamienne częściej w grupie kobiet z angiograficznie potwierdzoną chorobą niedokrwinną serca. 69% (9 z 13) kobiet z chorobą wieńcową spełniało kryteria podwzgórzycy, podczas gdy w grupie kobiet bez zmian w naczyniach wieńcowych takich kobiet było 29% (24 z 82). W analizach *post hoc* wykazano, że hipostrogenizm podwzgórzowy był najsilniejszym predyktorem choroby wieńcowej (po wyłączeniu takich czynników jak palenie, wskaźnik masy ciała [BMI], wiek), iloraz ryzyka wynosił 7,4 (przedział ufności [CI] 1,7-33,3). Na podstawie tych samych danych wykazano także związek między występowaniem podwzgórzowego hipostrogenizmu, a występowaniem cukrzycy [80]. Stwierdzono częstsze występowanie zaburzeń wydzielania gonadotropin u pacjentek z cukrzycą typu 2 (50% vs 26% w grupie kontrolnej), a współwystępowanie tych dwóch schorzeń jednocześnie, wpływało negatywnie na obecność angiograficznie potwierdzonej choroby wieńcowej. Według angiograficznej skali ciężkości choroby wieńcowej (CASS – *coronary artery severity score*) pacjentki z cukrzycą typu 2 osiągały średnio 12,3±18,8, z chorobą podwzgórza 7,7±4,6, a przy współistnieniu obu zaburzeń 19,9±19,2 punktów CASS. Autorzy badania konkludują, że hipostrogenemia może predysponować do hiperglikemii, a oba te czynniki wpływają negatywnie na uwalnianie śródbłonkowego NO oraz predysponuje do rozwoju miażdżycy.

## 1.6 SZTYWNOŚĆ NACZYŃ I POJĘCIE FALI TĘTNA

Sztywność jako pojęcie fizyczne to siła konieczna do uzyskania jednostkowego przemieszczenia (inaczej odkształcenia) ośrodka ciągłego lub układu mechanicznego [81]. W odniesieniu do naczyń pojęcie sztywności naczyń opisywane jest przez szereg różnorodnych wskaźników. W następstwie skurczu mięśnia sercowego dochodzi do rozejścia się w naczyniach siły powodującej falowe odkształcenie ściany tętnic. Odkształcenie to można zmierzyć i opisać używając pojęcia fali tętna. Szybkość rozchodzenia się tego odkształcenia (prędkość fali tętna, *Pulse Wave Velocity* – PWV) ściśle zależy od sztywności ściany naczyń – fala tętna rozchodzi się szybciej w naczyniach o większej sztywności, i przeciwnie wolniej, gdy naczynia są bardziej podatne [81]. Prędkość fali tętna jest wartością mierzalną, a jej ocena między tętnicą szyjną, a udową jest uznanym przez Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego i Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne złotym standardem pomiaru sztywności naczyń tętniczych [82].

Fala mechaniczna ma zdolność odbicia, odnosi się to również do fali tętna. Do zjawiska odbicia dochodzi najczęściej przy zmianie właściwości mechanicznych ośrodka w którym rozchodzi się fala, co w przypadku naczyń oznacza duże zmiany oporności naczyń [81]. W ludzkim układzie krążenia będą to np. miejsca rozgałęzień naczyń czy miejsca gdzie dochodzi do zmiany ich charakteru czynnościowego (z tętnic typu elastycznego na mięśniowy lub z układu tętniczego na żylny). W naczyniach występuje więc bardzo wiele miejsc odbicia, które powodują powstanie wypadkowej fal odbitych. Zwrot tych fal ma charakter przeciwny do fali tętna, przebiegają więc one z obwodu w kierunku serca. Falę odbitą można zaobserwować jako wzrost ciśnienia (ciśnienie wzmocnienia, *AP Augmentation Pressure*) oraz odkształcenie ściany naczyniowej. Wskaźnik wzmocnienia (*AI Augmentation Index*) stanowi stosunek ciśnienia wzmocnienia do amplitudy ciśnienia tętna i przedstawia w sposób pośredni miarę sztywności naczyniowej. Ściany naczyń o zmniejszonej podatności (sztywne) podlegają większym odkształceniom i z większym wzmocnieniem, a fala zwrotna rozchodzi się w nich szybciej. Parametry te są mierzalne dzięki metodzie analizy fali tętna (*Pulse Wave Analysis* – PWA) [81, 82]. W analizie tętna stosuje się szereg parametrów (porównaj Rycina 1-2 oraz Rycina 1-3), w tym między innymi:

1. Prędkość fali tętna -  $PWV = L/\Delta t$  (m/s), gdzie L- dystans, jaki pokonuje fala tętna,  $\Delta t$  – czas, w którym ten dystans zostaje pokonany
2. Ciśnienie fali tętna – P1 – maksymalne ciśnienie fali tętna (pierwotnej fali wytwarzanej przez serce)
3. Ciśnienie fali zwrotnej – P2 – maksymalne ciśnienie fali zwrotnej
4. Ciśnienie tętna (PP – *Pulse Pressure*) różnica między ciśnieniem skurczowym (SBP – *systolic blood pressure*) a rozkurczowym (DBP – *diastolic blood pressure*).
5. Ciśnienie wzmocnienia – AP (*augmentation pressure*):  $AP=P2-P1$

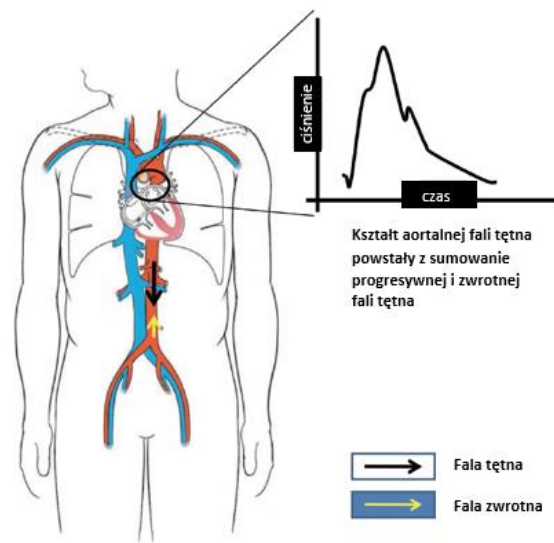
6. Wskaźnik wzmocnienia – AI (*augmentation Index*):  $AI=(P2-P1/PP)\times 100\%$  [81,82],

Analizy fali tętna można też dokonywać analizując w miejsce zmiennych opisujących ciśnienie zmienne czasowe, charakterystyczne dla poszczególnych zjawisk hemodynamicznych:

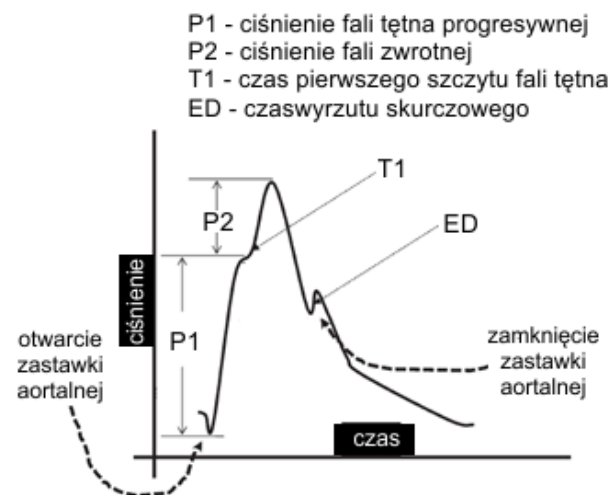
1. Czas T1 – czas, w którym osiągnięte jest ciśnienie fali tętna P1
2. Czas T2 – analogicznie, czas w którym pojawia się maksymalne ciśnienie fali zwrotnej (P2)
3. Czas wyrzutu krwi z lewej komory (ED - *ejection duration*) czas od początku przepływu krwi przez zastawkę aortalną do czasu zamknięcia zastawki, który obrazowany jest na wykresie fali tętna jako charakterystyczne wcięcie (*dicortic notch*)
4. Czas powrotu fali odbitej (TR – *time to reflection*) – czas od przejścia fali tętna na obwód do powrotu do aorty w postaci fali odbitej. [81, 82]

Obok PWV, wykładnikami sztywności naczyń o największym znaczeniu klinicznym są AI, AP i PP [81, 82].

Ciśnienie tętna ( $PP=SBP-DBP$ ) jest zmienną zależną od rzutu serca, właściwości mechanicznych dużych naczyń elastycznych (głównie aorty) oraz współczynnika odbicia. Bramwell i Hill [83]. wykazali, że współczynnik ten jest wiarygodnym oraz łatwo mierzalnym surrogatem sztywności aorty. Odmianą zaletą PP jest jego łatwy pomiar możliwy w warunkach ambulatoryjnych, jak i domowych, z użyciem sphygmomanometru. Do wad należy natomiast zależność od rzutu serca oraz współczynnika odbicia. Poza tym PP zależy również w dużej mierze od mechanicznych właściwości naczyń obwodowych, która znacznie zmienia się z wiekiem. Różnice w pomiarach ciśnienia obwodowego i centralnego mogą u osób starszych sięgać aż 20 mmHg, wpływając ujemnie na użyteczność tego wskaźnika w tej grupie wiekowej [84].



Rycina 1-2 Powstawanie fali tętna w aorcie oraz wykres fali tętna. Zmodyfikowano na podstawie [81]



Rycina 1-3. Wykres krzywej ciśnienia fali tętna w funkcji czasu. Zmodyfikowano na podstawie [81]



Opracowano szereg metod inwazyjnych i nieinwazyjnych służących pomiarowi fali tętna. Metody inwazyjne wymagają wprowadzenia do naczynia tętniczego cewnika i wykorzystuje się je głównie w badaniach na zwierzętach i nie będą w tym miejscu opisywane. W praktyce klinicznej wykorzystuje się pomiary nieinwazyjne, gdyż nie wymagają wewnątrz tętniczej procedury zabiegowej oraz dają wiarygodne i powtarzalne wyniki [81, 82].

Do powszechnie stosowanych technik pomiaru parametrów fali tętna należą: tonometria aplanacyjna, metoda oscylometryczna, metoda fotopletyzmoigraficzna oraz metody obrazowe szczególnie badanie ultrasonograficzne z funkcją Doppler oraz rezonans magnetyczny [81, 82].

W tonometrii aplanacyjnej wykorzystuje się czujnik piezoelektryczny, który mierzy zmiany ciśnienia na powierzchni spłaszczonego (aplanacja) naczynia tętniczego. Uciśnięcie i spłaszczenie naczynia pozwala na wyrównanie obwodowych ciśnień i zapewnia dużą wiarygodność wyników. Wykorzystanie aparatu zlokalizowanego w okolicy nadgarstka pozwala na precyzyjną ocenę ciśnienia wewnątrznaczyniowego dzięki utrzymywaniu tętnicy w stałym położeniu na nieściśliwej kości promieniowej. Wykorzystane dane pomiarowe poddaje się obróbce z zastosowaniem funkcji transferowych. Pozwalają one na precyzyjne odwzorowanie centralnej (aortalnej) fali tętna. Funkcje transferowe wykorzystują współczynniki pozyskane na drodze inwazyjnej i pozwalają ominąć różnice związane z różną budową ściany tętnicy promieniowej i aorty, jak również inną drogę powrotu odbitej fali tętna [85].

Metoda oscylometryczna opiera się na rejestrowaniu ciśnienia tętniczego przy użyciu mankietów sfigmomanometrów umieszczonych nad tętnicą ramienną i tętnicą piszczelową. Rejestracja zmian ciśnienia odbywa się jednocześnie z pomiarem czynności elektrycznej serca w elektrokardiografii co pozwala ocenić czas, w jakim fala tętna osiągnęła poszczególne punkty rejestracji. Dane otrzymane z mankietów manometrycznych, EKG oraz zmierzone odległości między punktami pomiaru są przekazywane do aparatu analizującego, który przy użyciu oprogramowania wylicza parametry fali tętna [81, 85].

Fotopletyzmoigrafia polega z kolei na pomiarze objętościowym fali tętna wykonywanym na palcu (*digital volume pulse, DVP*). Czujnik mierzy transmitowane fale podczerwone w obrębie opuszki palca, których intensywność zależy od objętości przepływającej krwi. Przy użyciu odpowiedniego oprogramowania możliwa jest rekonstrukcja fali tętna z ciągłych pomiarów tętna włósczkowego [81, 82].

## 1.7 ZNACZENIE KLINICZNE BADANIA SZTYWNOŚCI NACZYŃ

Sztywnienie ściany naczyniowej jest konsekwencją dość licznych, wpływających na siebie wzajemnie mechanizmów związanych z przebudową ściany naczyniowej, zaburzeniami czynności śródbłonna, oraz działaniem licznych czynników neuroendokrynych i metabolicznych. W zeszywniałych ścianach naczyń można zaobserwować liczne histologiczne cechy degeneracji: zwiększone gromadzenie włókien kolagenowych, fragmentację elastyny, infiltrację mięśniówki i makrofagów oraz zwiększoną aktywność metaloproteinaz. W rezultacie dochodzi do pogrubienia kompleksu intima-media [86]. Procesy te pojawiają się już wcześnie, od ok. 20 roku życia i postępują z wiekiem. Utrzymanie stosunkowo niskiego ciśnienia warunkowane jest częściowo poprzez rosnącą średnicę dużych naczyń, o ok. 9% na dekadę do 60 roku życia [87].

Zwiększona sztywność naczyń, zgodnie z definicją fizyczną oznacza, że serce musi pompować krew z większą siłą, a co za tym idzie zwiększa się jego obciążenie. Co więcej właściwa sztywność naczyń wpływa też znacząco na perfuzję mięśnia sercowego. Zwrotna fala tętna bowiem, w fizjologicznych warunkach, powraca do serca w okresie późnego skurczu i wczesnego rozkurczu. Ta odbita, powracająca fala zwiększonego ciśnienia w odpowiednim momencie cyklu sercowego zapewnia wzrost ciśnienia w okolicy zastawki aortalnej, tuż przy ujściach naczyń wieńcowych. Innymi słowy przy odpowiedniej sztywności naczyń, fala zwrotna zwiększa przepływ wieńcowy [81, 82]. Dwa wyżej wymienione mechanizmy powodują, że właściwa sztywność naczyń może być jednym z czynników warunkujących właściwe funkcjonowanie układu krążenia. Teza ta została poparta w licznych badaniach klinicznych. Zwiększona sztywność naczyń, zwłaszcza centralnych (aorty i jej rozgałęzień) stanowi istotny czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Stwierdzona pozytywną zależność między zwiększoną sztywnością tętnic, a nadciśnieniem tętniczym, chorobą naczyń wieńcowych, występowaniem udaru, niewydolności serca oraz migotaniem przedsionków. Zwiększona sztywność naczyń wiąże się też ze zwiększoną zapadalnością na choroby sercowo-naczyniowe u pacjentów z rozpoznaną cukrzycą i przewlekłą chorobą nerek [81, 82, 88, 89, 90, 91, 92]. Co więcej, wykazano, że wyższe wartości SBP i PP lepiej korelują z występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych i mózgowo-naczyniowych, niż średnie ciśnienie tętnicze czy ciśnienie rozkurczowe, szczególnie u osób starszych [93, 94, 95].

## 2 CEL PRACY

---

Celem pracy była ocena centralnych parametrów hemodynamicznych, wybranych obwodowych parametrów hemodynamicznych i wskaźników sztywności naczyń u pacjentek z głębokim hipostrogenizmem na tle czynnościowego podwzgórzowego braku miesiączki związanego z utratą masy ciała.

W szczególności celem było porównanie badanych parametrów między pacjentkami z FHA, a kobietami zdrowymi, dobranymi pod względem wieku. Do głównych badanych parametrów hemodynamicznych należały:

- Ciśnienia obwodowe: skurczowe (PSP), rozkurczowe (PDP), średnie (PMP) i tętna (PPP).
- Obwodowe ciśnienie wzmocnienia (PAP) i obwodowy wskaźnik wzmocnienia (PAI).
- Ciśnienia ośrodkowe: skurczowe (CSP), rozkurczowe (CDP), średnie (CMP) i tętna (CPP).
- Ośrodkowe ciśnienie wzmocnienia (CAP) i obwodowy wskaźnik wzmocnienia (CAI).

Celem badania była również ocena korelacji między wybranymi parametrami hormonalnymi, metabolicznymi oraz antropometrycznymi, a wskaźnikami hemodynamicznymi w grupach badanej i kontrolnej.

Do analizowanych parametrów hormonalnych należały:

- stężenia estradiolu w surowicy
- stężenia androgenów w surowicy: testosteronu, siarczanu dehydroepiandrosteronu (DHEAS)
- stężenia gonadotropin w surowicy: FSH, LH
- stężenia w surowicy innych wybranych hormonów o potencjalnym wpływie na czynność układu krążenia u pacjentek z FHA: TSH, wolnej tyroksyny (fT4), prolaktyny (PRL)

Do parametrów metabolicznych badanych w niniejszej pracy należą:

- stężenia glukozy w surowicy, oznaczane na czczo
- stężenia insuliny w surowicy, oznaczane na czczo
- stężenia frakcji lipidowych osocza: TCh, LDL, HDL, TG

W badaniu wzięto też pod uwagę możliwy wpływ czynników antropometrycznych:

- masy ciała, wzrostu i wyliczonego na ich podstawie wskaźnika BMI
- oszacowanej zawartości tkanki tłuszczowej.

### 3 MATERIAŁ

---

Do badania włączono 40 kobiet z rozpoznaniem FHA hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Do grupy badanej zakwalifikowano 36 kobiet w wieku od 18 do 37 lat. Zdyskwalifikowano 4 pacjentki: 2 ze względu na stwierdzone w badaniach współistniejące zaburzenia czynności tarczycy, 1 ze względu na hiperprolaktynemię, 1 ze względu na rozpoznanie jądłowstrętu psychicznego.

U każdej z pacjentek rozpoznano czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki na podstawie poniższych kryteriów:

- rozpoznanie wtórnego braku miesiączki, określanego jako brak miesiączki przez okres dłuższy niż 90 dni, niezwiązany z ciążą [96],
- obniżone stężenie LH w surowicy krwi (<5 mIU/ml) [97].

Do badania włączono pacjentki z rozpoznaniem FHA na tle odchudzania, definiowanego jako istotny (minimum 3 kg) spadek masy ciała w 3 miesiącach poprzedzających wystąpienie wtórnego braku miesiączki

Kryteria wykluczenia:

- rozpoznanie jądłowstrętu psychicznego rozpoznane wykluczano w oparciu kryteria diagnostyczne Klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrii z 1994 roku (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV*) [98]:
  - brak akceptacji psychicznej utrzymania masy ciała na poziomie minimum normy odpowiedniej dla wieku i wzrostu (utrata masy ciała prowadząca do stanu poniżej 85% masy należnej lub niemożność przyrostu masy ciała w okresie wzrostu do 85% masy należnej),
  - stała obawa przed wzrostem masy ciała lub otyłością, nawet w razie niedowagi,
  - zaburzenie w samoocenie dotyczące masy i wyglądu ciała; prawidłowa masa ciała jest postrzegana jako nadmierna, a niska masa ciała jako prawidłowa,
  - u osób wcześniej miesiączkujących występuje wtórny brak miesiączki.
- rozpoznane innej etiologii wtórnego braku miesiączki:
  - o wady anatomiczne w obrębie układu rozrodczego w wywiadzie, w badaniu ginekologicznym lub stwierdzone w ultrasonografii dopochwowej,
  - o zaburzenia endokrynologiczne: hiperprolaktynemia, zaburzenia czynności tarczycy, zespół policystycznych jajników (PCOS) – stwierdzone na podstawie wyników badań hormonalnych lub w wywiadzie [99],

- niedoczynność przysadki mózgowej: jatrogena (pozabiegowa), pourazowa, zespół Sheehana lub o innej etiologii – stwierdzona na podstawie badań hormonalnych i testu czynnościowego z gonadoliberyną lub w wywiadzie.
- Rozpoznanie choroby mogącej istotnie wpływać na czynność układu sercowo-naczyniowego:
  - Nadciśnienie tętnicze, niewydolność serca, choroba niedokrwienności serca, wrodzone wady serca lub dużych naczyń – w wywiadzie,
  - Cukrzyca typu 1 lub 2,
  - Zażywanie leków wpływających na układ krążenia: leki przeciwnadciśnieniowe, antyarytmiczne.
- Stosowanie obecnie lub w czasie ostatnich trzech miesięcy leczenia hormonalnego.
- Nowotwór jajnika, nadnerczy, endometrium, szyjki macicy, gruczołu piersiowego lub inna choroba nowotworowa – w wywiadzie.

Grupę kontrolną stanowiło 14 zdrowych ochotniczek, zakwalifikowanych do badania według poniższych kryteriów:

- wiek 18-35 lat,
- regularne miesiączki ( $28 \pm 5$  dni) w wywiadzie przez ostatnie 2 lata,
- brak istotnego ( $>3$  kg) spadku masy ciała w wywiadzie w ciągu ostatniego roku,
- brak istotnych zaburzeń odżywiania (BMI w zakresie  $16,0 - 29,9$  kg/m<sup>2</sup>)

Oprócz wyżej wymienionych, wobec grupy kontrolnej zastosowano te same kryteria wykluczenia z badania.

Wszystkie pacjentki zostały dokładnie poinformowane o badaniach i podpisały świadomą zgodę na udział w nich.

Badanie zostało pozytywnie zaopiniowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała 305/13 z dn. 4 kwietnia 2013 r.).

## 4 METODYKA

---

Wszystkie badania wykonywano u danej pacjentki jednego dnia. U pacjentek z grupy kontrolnej badanie odbywało się w późnej fazie folikularnej (między 10, a 12 dniem cyklu).

### 4.1 BADANIE PODMIOTOWE

U wszystkich pacjentek włączonych do badania przeprowadzono szczegółowy wywiad lekarski, ze szczególnym uwzględnieniem następujących informacji: wiek wystąpienia *menarche*, długość cyklu, moment pojawienia się jego zaburzeń, długość, obfitość i bolesność krwawienia miesięczkowego, spadek masy ciała w kilogramach oraz jego przyczyny, czas trwania odchudzania, wystąpienie w przeszłości silnego stresu lub znacznego wysiłku fizycznego, przeszłość położnicza, choroby przewlekłe, przyjmowane leki, dotychczasowe leczenia hormonalne, przebyte operacje, uczulenia, przyjmowane leki oraz wywiad rodzinny. Przeprowadzono też wywiad mający na celu wykluczenie jadłowstrętu psychicznego (por. kryteria wykluczenia powyżej).

### 4.2 BADANIE PRZEDMIOTOWE

U każdej pacjentki oznaczono: masę ciała i wzrost. Wykonano także badanie ginekologiczne we wziernikach i zestawione. Na podstawie uzyskanych parametrów obliczono wskaźnik masy ciała:

$$BMI \left[ \frac{kg}{m^2} \right] = \frac{masa\ ciała [kg]}{wzrost^2 [m]}$$

Zgodnie z obowiązującymi kryteriami przyjęto następujące kryteria oceny wartości BMI:

- <16,0 kg/m<sup>2</sup> – wygłodzenie,
- 16,0 - 18,49 kg/m<sup>2</sup> – niedowaga,
- 18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup> - norma,
- 25-29,9 kg/m<sup>2</sup> - nadwaga,
- > 30 kg/m<sup>2</sup> – otyłość.

### 4.3 OCENA SKŁADU CIAŁA

Do oceny składu ciała zastosowano urządzenie MC 180 MA firmy Tanita, wykorzystujące analizę bioelektrycznej impedancji do pomiaru bezwzględnej [kg] i względnej [%] ilości tkanki tłuszczowej, pozatłuszczowej masy ciała oraz masy kości. Urządzenie MC 180 MA posiada europejski certyfikat pozwalający stosować je w badaniach klinicznych i dla celów medycznych u osób w wieku od 5 do 99 roku życia i masie nieprzekraczającej 270 kg [100].

#### 4.4 BADANIA OBRAZOWE

U każdej pacjentki wykonano badanie ultrasonograficzne narządu rodowego sondą dopochwową o zmiennej częstotliwości (5-7 MHz) aparatu Aloka Prosound Alpha 6 (Aloka Co, Ltd, Tokio, Japonia) w Pracowni Ultrasonografii Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Oprócz oceny budowy anatomicznej narządów miednicy mniejszej wykonano pomiar 3 wymiarów jajników i trzonu macicy (obliczenie objętości przy pomocy wzoru dla elipsoidy obrotowej), ocenę pęcherzyków jajnikowych (faza wzrostu) ewentualnego ciała żółtego oraz ocenę grubości endometrium.

#### 4.5 OZNACZENIA HORMONALNE I BIOCHEMICZNE

Krew do oznaczeń laboratoryjnych pobierano z żył powierzchownych przedramienia, na czczo (minimum 8 godz.) w godzinach porannych (7:00-8:00) w ilości około 15 ml. Po pobraniu i wytworzeniu skrzepu krew poddawano wirowaniu z przyspieszeniem 1500 g przez 10 minut, celem pozyskania surowicy do dalszych oznaczeń.

Oznaczenia hormonalne wykonane zostały metodą immunoenzymobscyjną (ELISA) za pomocą analizatora Cobas e601 firmy Roche Diagnostics, z użyciem odpowiednich testów, dostępnych komercyjnie. Dla hormonów peptydowych i glikopeptydowych wykorzystano metodę „kanapkowego ELISA” – „sandwich ELISA”, a dla oznaczeń hormonów steroidowych metodę kompetencyjną ELISA.

Metoda „kanapkowego ELISA” (oznaczenia FSH, LH, PRL, TSH, insuliny) polega na inkubacji przygotowanej surowicy z dwoma rodzajami immunospecyficznych wobec danego hormonu przeciwciał monoklonalnych: biotynylowanymi i znakowanymi kompleksem rutenu. Powstały kompleks przeciwciało-antygen-przeciwciało łączy się następnie z mikrocząsteczkami paramagnetycznymi opłaszczonymi streptoawidyną. Ten kompleks o właściwościach magnetycznych wiązany jest z fazą stałą i przenoszony do komory pomiarowej. Dzięki nadaniu właściwości magnetycznych, jest możliwe unieruchomienie pozyskanych kompleksów na elektrodzie platynowej i oczyszczenie z substancji niezwiązanych. Na tym etapie do mieszaniny dodaje się kompleks ProCell zawierający trójpropyloaminę, a przyłożone napięcie wywołuje reakcję elektrochemiluminescencji kompleksów. Emitowane światło o długości fali 620 nm jest mierzone z zastosowaniem fotopowielacza i aparat, wykorzystując dane kalibracyjne automatycznie wylicza stężenia poszczególnych hormonów.

Kompetencyjne ELISA (badanie stężeń estradiolu, testosteronu i DHEAS) wykorzystuje tylko jeden rodzaj specyficznych monoklonalnych przeciwciał znakowanych biotyną. Do mieszaniny dodaje się natomiast egzogenną pochodną (hapten) oznaczanego hormonu znakowany rutenem. Hapten oraz właściwy antygen (hormon) konkurują o związanie z przeciwciałem, co pozwala w dalszym etapie

oczyścić mieszaninę ze zbędnych przeciwciał. Następnie, podobnie jak w „kanapkowym” ELISA nadaje się kompleksowi właściwości najpierw magnetyczne (kompleks streptoawidyny) oraz luminescencyjne (kompleks ProCell) oraz wykonuje badanie ilości emitowanego światła.

Badania hormonalne wykonano w Centralnym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu i zgodnie z danymi kalibracyjnymi z tego ośrodka przyjęto następujące zakresy norm dla poszczególnych oznaczeń:

- Folikulotropina - FSH (faza folikularna: 3,5 - 12,5 mIU/ml)
- Lutropina - LH (faza folikularna: 2,4 - 12,6 mIU/ml)
- Estradiol - E2 (faza folikularna: 12,5 - 166,0 pg/ml)
- Testosteron - T (0,06 - 0,82 ng/ml)
- 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)
- Tyroksyna wolna – fT4 (0,91-1,70 μIU/ml)
- Insulina: (na czczo 2,6 - 9,9 μIU/ml)

Do badań biochemicznych wykorzystano automat pomiarowy Cobas c501 firmy Roche Diagnostics. Ocenę stężeń frakcji lipidowych oraz glukozy wykonano za pomocą metody enzymatyczno-kolorymetrycznej. W metodzie tej wykorzystuje się specyficzne enzymy, które po inkubacji z reagentem (frakcją lipidową, glukozą) powodują powstanie barwnego produktu. Natężenie reakcji barwnej jest mierzone kolorymetrem poprzez pomiar absorbancji przy danej długości fali światła. Wykorzystano następujące enzymy dla poszczególnych cząsteczek: esteraza i oksydaza cholesterolowa dla cholesterolu całkowitego (produkt reakcji chininoamina, pomiar absorbancji przy fali długości 505 nm); kinaza glicerolowa i oksydaza glicerolofosforanowa dla triglicerydów (produkt reakcji chininoamina, pomiar absorbancji przy fali długości 505 nm); esteraza cholesterolowa i oksydazy cholesterolowa skompleksowana z polietylenoglikolem dla cholesterolu HDL (pomiar absorbancji przy fali długości 505 nm); heksokinaza dla glukozy (produkt reakcji zredukowany dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy – NADH, pomiar absorbancji przy fali długości 340 nm)

Wynik cholesterolu LDL jest wartością wyliczaną ze wzoru Friedewalda [101]:

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

Zgodnie z zakresem referencyjnym Laboratorium przyjęto następujące normy:

- Cholesterol całkowity - TCh (50 - 200 mg/dl)



- Frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o niskiej gęstości – LDL (35 -130 mg/dl)
- Frakcja cholesterolu związana z lipoproteiną o wysokiej gęstości – HDL (35 - 70 mg/dl)
- Trójglicerydy - TG (50 - 150 mg/dl)
- Glukoza (na czczo 70 - 99 mg/dl).

Na podstawie oznaczenia stężeń glukozy i insuliny w surowicy u każdej pacjentki obliczony wskaźnik insulinooporności wg homeostatycznego modelu oceny (HOMA-IR - *homeostasis model assessment insulin resistance*), jak poniżej [102]:

$$HOMA = \frac{Insulina \left[ \frac{\mu IU}{ml} \right] \times Glukoza \left[ \frac{mg}{dl} \right]}{405}$$

Wartość HOMA-IR $\geq$ 2,5 uznano za wskazującą na insulinooporność [102].

#### 4.6 OCENA SZTYWNOŚCI NACZYŃ

Badania układu krążenia przeprowadzone zostały w Katedrze i Klinice Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. U każdej pacjentki dokonano analizy fali tętna.

Badanie przeprowadzono w pozycji leżącej, w godzinach 11:00-13:00, po 15 minutowym okresie odpoczynku, w pomieszczeniu o stałych, komfortowych warunkach temperaturowych (ok. 23°C) i świetlnych, w ciszy. Z zastosowaniem techniki tonometrii aplanacyjnej wykonano ciągłą nieinwazyjną rejestrację fali tętna (PWA – *Pulse Wave Analysis*) na poziomie tętnicy promieniowej. Wykorzystano pizoelektryczny tonometr Colin BMP 7000, Colin Japonia, po wcześniejszej kalibracji urządzenia. Do kalibracji niezbędny był pomiar bezwzględnego ciśnienia tętniczego na tętnicy promieniowej z zastosowaniem techniki oscylometrycznej.

Odczyty z tonometru były w czasie rzeczywistym przekazywane do urządzenia Sphygmocor MX (AtCor Medical, Australia). Urządzenie Sphygmocor, uwzględniając płeć, wiek i dane antropometryczne (wzrost i masę ciała oznaczone bezpośrednio przed badaniem) dokonywało w czasie rzeczywistym rekonstrukcję fali tętna centralnego na podstawie uzyskanych danych fali tętna obwodowego, z użyciem predefiniowanych funkcji transferowych.

Do głównych badanych parametrów hemodynamicznych należały:

- Ciśnienia obwodowe: skurczowe (PSP), rozkurczowe (PDP), średnie (PMP) i tętna (PPP).
- Obwodowe ciśnienie wzmocnienia (PAP) i obwodowy wskaźnik wzmocnienia (PAI).
- Ciśnienia ośrodkowe: skurczowe (CSP), rozkurczowe (CDP), średnie (CMP) i tętna (CPP).

- Ośrodkowe ciśnienie wzmocnienia (CAP) i obwodowy wskaźnik wzmocnienia (CAI).

Poza tym oznaczano także:

- Częstotliwość rytmu serca.

- Czas wyrzutu (ED).

- Obwodowe: pierwszy (PP1) i drugi (PP2) szczyt ciśnienia skurczowego, czas pierwszego (PT1) i drugiego (PT2) szczytu ciśnienia skurczowego.

- Ośrodkowe: pierwszy (CP1) i drugi (CP2) szczyt ciśnienia skurczowego, czas pierwszego (CT1) i drugiego (CT2) szczytu ciśnienia skurczowego.

#### 4.7 ANALIZA STATYSTYCZNA

Cechy badane (oznaczone i wyliczone) opisano jako wartość średnią i odchylenie standardowe oraz medianę, gdyż wiele z parametrów charakteryzowało się rozkładem nieparametrycznym. W tabelach zaznaczono czy rozkład cechy był zgodny z rozkładem normalnym, co stwierdzano na podstawie testu Shapiro-Wilka.

Grupy porównywano za pomocą testu t-Studenta dla prób niezależnych (gdy zachodziła zgodność z rozkładem normalnym) lub testu nieparametrycznego Manna-Whitney'a, gdy rozkład nie spełniał warunków rozkładu Gaussa.

Zależność między parametrami badano wyznaczając współczynnik korelacji Pearsona (po potwierdzeniu zgodności z rozkładem normalnym) lub współczynnik korelacji nieparametrycznej Spearmana.

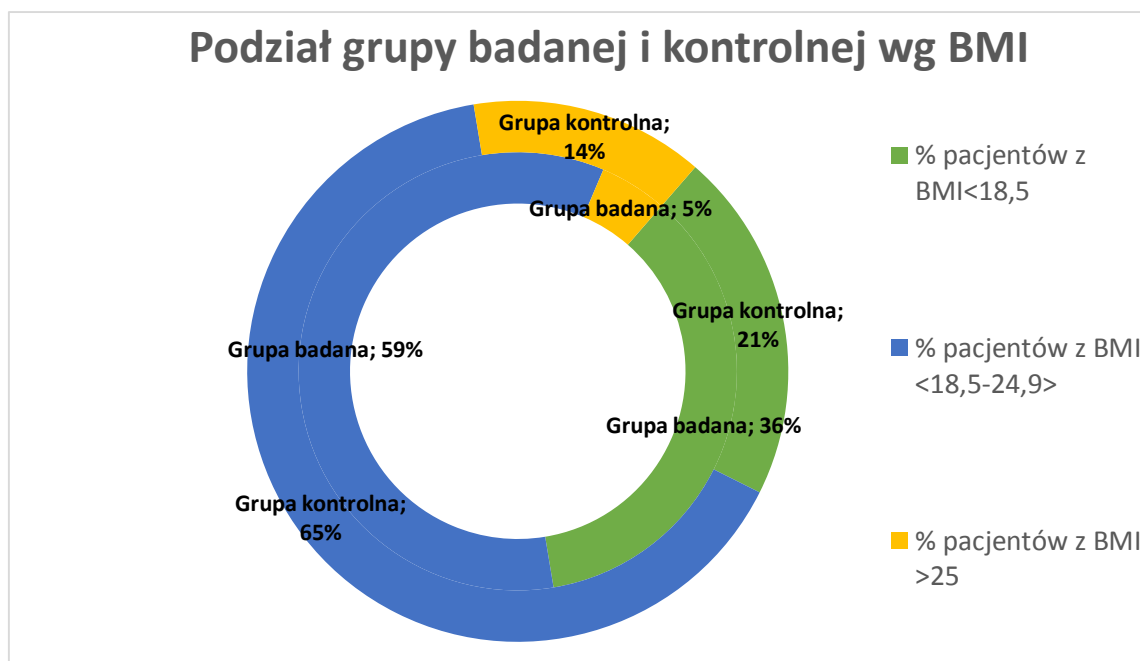
Obliczenia wykonano przy pomocy pakietu statystycznego STATISTICA (*data analysis software system*), v. 10.0.

## 5 WYNIKI

### 5.1 CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ I KONTROLNEJ.

Zgodnie z przyjętymi kryteriami do badania włączono 36 kobiet z rozpoznaniem FHA, mediana wieku w tej grupie wynosiła 23 lata i nie różniła się istotnie od mediany wieku w grupie kontrolnej (n=14, mediana = 27 lat). Najmłodsza kobieta włączona do grupy badanej miała 18 lat, a w grupie kontrolnej była to dziewiętnastolatka. Najstarsze kobiety włączone do badania miały odpowiednio 35 i 33 lata (porównaj Tabela 5-1). Średni okres wtórnego braku miesiączki wynosił u pacjentek z FHA  $6\pm 2$  miesięcy.

Pomiary antropometryczne wykazały pewne różnice między grupami włączonymi do badania. Kobiety z grupy badanej można określić jako ogólnie szczuplejsze: średni BMI w tej grupie wynosił  $19,2\pm 2,8$  kg/m<sup>2</sup> (w grupie kontrolnej  $21,6\pm 3,3$  kg/m<sup>2</sup>,  $p<0,05$ ), mniejsza też była średnia masa ciała (porównaj Tabela 5-1). Stosunkowo duży był udział osób wychudzonych w obu grupach, większy jednak w grupie FHA (36% w FHA vs 21% w grupie kontrolnej). Strukturę BMI w obu grupach przedstawia Wykres 5-1.

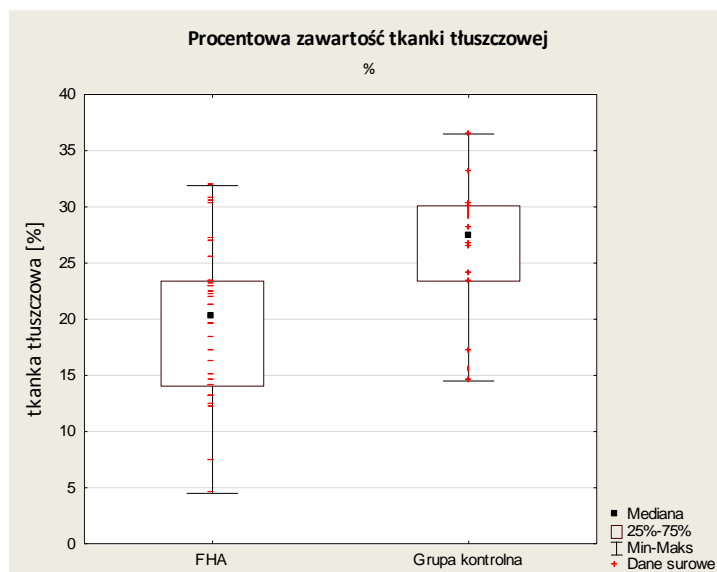


Wykres 5-1 Podział grupy badanej i kontrolnej wg BMI

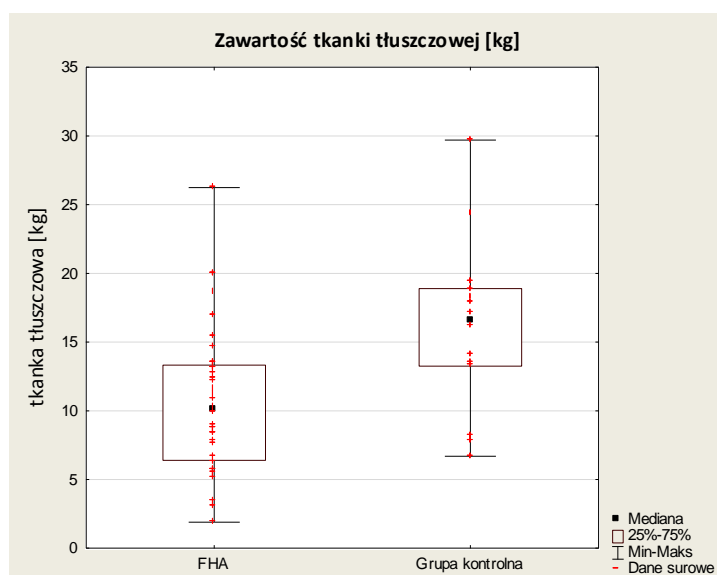
Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
(~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>Wiek [lata]</b>			0,398179
<i>średnia±SD</i>	24±6	25±5	
<i>mediana</i>	23,0	27,0	
- Zakres [lata]	18-35	19-33	
<b>Masa ciała [kg]</b>			<b>0,020101</b>
<i>średnia±SD</i>	52,9±9,1	59,9±10,3	
<i>mediana</i>	51,3	58,9	
<b>Wzrost [cm]</b>			0,238258
<i>średnia±SD</i>	165,1±6,6	166,3±6,3	
<i>mediana</i>	163,4	168,0	
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>			<b>0,018508</b>
<i>średnia±SD</i>	19,2±2,8	21,6±3,3	
<i>mediana</i>	18,8	21,6	
- % pacjentów z BMI<18,5	36%	21%	
- % pacjentów z BMI <18,5-24,9>	59%	65%	
- % pacjentów z BMI >25	5%	14%	
<b>Długość wtórnego braku miesiączki [miesiące]</b>	6±2	-	

Tabela 5-1 Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej

Różne wartości BMI w obu grupach zyskały potwierdzenie we wskaźnikach analizy składu ciała metodą bioimpedancyjną (Tabela 5-2). Obie grupy różniły się tylko zawartością bezwzględną i procentową tkanki tłuszczowej, przy czym wyższe wartości tych parametrów charakteryzowały grupę kontrolną (Wykres 5-2, Wykres 5-3).



Wykres 5-2 Procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w grupie badanej i kontrolnej.



Wykres 5-3 Bezwzględna zawartość tkanki tłuszczowej w grupie badanej i kontrolnej.

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
(~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>Zawartość tkanki tłuszczowej</b>			
- Procentowa			<b>0,004648</b>
<i>średnia±SD</i>	19,4±6,9%	26,0±6,6%	
<i>mediana</i>	20,35%	27,4%	
- Bezwzględna [kg]			<b>0,005681</b>
<i>średnia±SD</i>	10,7±5,3	16,1±6,33	
<i>mediana</i>	10,0	16,6	
<b>Pozatłuszczowa masa ciała [kg]</b>			0,162274
<i>średnia±SD</i>	42,1±4,9	43,9±5,0	
<i>mediana</i>	41,9	43,7	
<b>Całkowita masa kości [kg]</b>			0,090710
<i>średnia±SD</i>	2,1±0,8	2,2±0,3	
<i>mediana</i>	2,2	2,2	

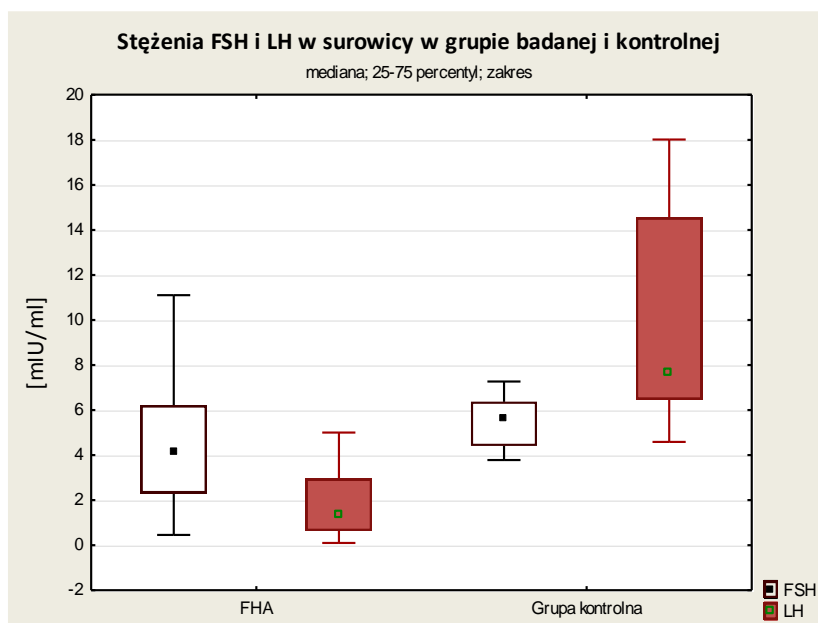
Tabela 5-2 Wyniki analizy składu ciała metodą bioimpedancjną w grupie badanej i kontrolnej.

## 5.2 WYNIKI BADAŃ HORMONALNYCH I BIOCHEMICZNYCH

Wykazano znaczne różnice w profilu hormonalnym pacjentek badanych i kobiet z grupy kontrolnej. Zgodnie z kryteriami diagnostycznymi pacjentki z FHA charakteryzował hipogonadyzm hipogonadotropowy (porównaj Tabela 5-3). Mediana stężeń FSH, LH i estradiolu wynosiły odpowiednio: 4,16 mIU/ml, 1,39 mIU/ml i 13,30 pg/ml w grupie badanej, a 5,65 mIU/ml, 7,64 mIU/ml i 140,75 pg/ml w grupie kontrolnej. Jedynie stężenia FSH były porównywalne w obu grupach, choć wykazywały tendencję do statystycznie niższych stężeń w grupie badanej,  $p=0,06$  (porównaj Wykres 5-4).

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
(~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>FSH [mIU/ml]</b>			
<i>średnia±SD</i>	4,46±2,60	5,84±1,70	0,063144
<i>mediana</i>	4,16	5,65	
<b>LH [mIU/ml]</b>			
<i>średnia±SD</i>	1,97±1,75	19,90±29,00	<b>0,000000</b>
<i>mediana</i>	1,39	7,64	
<b>Estradiol [pg/ml]</b>			
<i>średnia±SD</i>	19,31±16,53	157,06±57,28	<b>0,000000</b>
<i>mediana</i>	13,30	140,75	
<b>Testosteron [ng/ml] (~)</b>			
<i>średnia±SD</i>	0,31±0,17	0,49±0,18	<b>0,003415</b>
<i>mediana</i>	0,30	0,48	
<b>DHEAS [μmol/l] (~)</b>			
<i>średnia±SD</i>	5,23±2,65	7,48±2,62	<b>0,026782</b>
<i>mediana</i>	5,35	7,31	
<b>PRL [ng/ml]</b>			
<i>średnia±SD</i>	8,79±4,58	14,21±6,14	<b>0,010455</b>
<i>mediana</i>	4,66	14,33	
<b>TSH [μIU/ml]</b>			
<i>średnia±SD</i>	1,99±1,11	2,96±1,17	<b>0,005141</b>
<i>mediana</i>	1,68	2,82	
<b>fT4 [ng/dl]</b>			
<i>średnia±SD</i>	1,33±0,70	1,36±0,12	<b>0,009225</b>
<i>mediana</i>	1,17	1,35	

Tabela 5-3 Parametry hormonalne w grupie badanej i kontrolnej

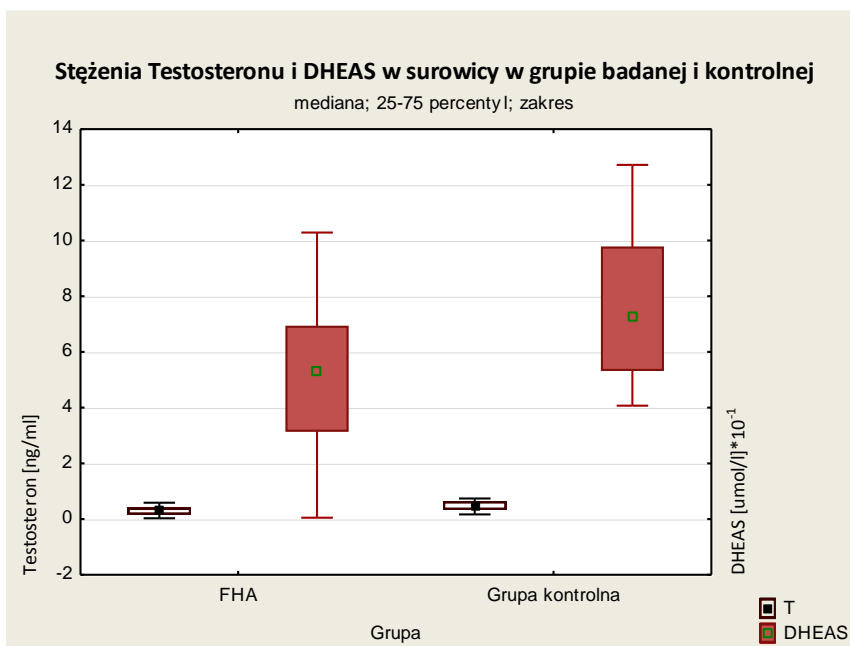


Wykres 5-4. Stężenia FSH i LH w surowicy w grupie badanej i kontrolnej.

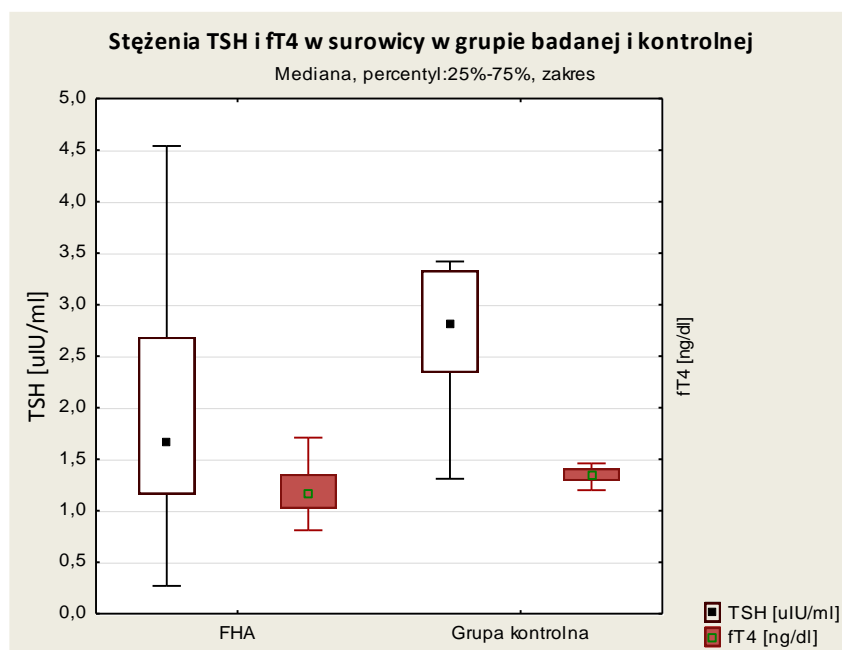
Średnie wartości stężeń badanych androgenów również były znacząco niższe w grupie pacjentek z podwzgórzycą (porównaj Tabela 5-3 i Wykres 5-3). Podobną zależność stwierdzono dla stężeń TSH i fT4 w surowicy, ze znacząco niższymi wartościami w grupie FHA (porównaj Tabela 5-3 i Wykres 5-6).

Dla kolejnego analizowanego hormonu, PRL również odnotowano niższe stężenia w grupie FHA w stosunku do kobiet zdrowych (mediana dla FHA 4,66 ng/ml vs 14,33 ng/ml,  $p=0,01$ ).





Wykres 5-5 Stężenia testosteronu i DHEAS w surowicy w grupie badanej i kontrolnej.



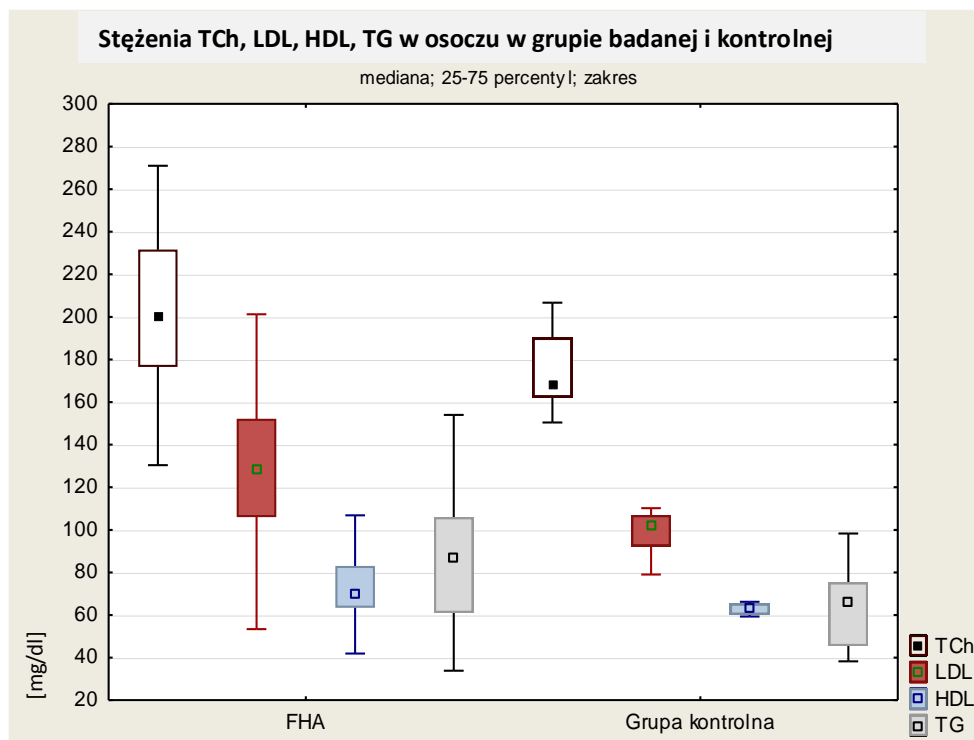
Wykres 5-6 Stężenia TSH i fT4 w grupie badanej i grupie kontrolnej.

W badaniu uwzględniono też szereg parametrów metabolicznych. Stwierdzono różne stężenia w osoczu niemal wszystkich frakcji lipidowych w grupie z FHA i grupie kontrolnej, w szczególności TCh, LDL i TG, które były istotnie wyższe w grupie badanej (porównaj Tabela 5-4 i

Wykres 5-7). Stosunkowo duży odsetek kobiet z grupy badanej wykazywał podwyższone wartości poszczególnych frakcji lipidowych. Dla TCh było to 45%, dla LDL 50% i 5% dla TG, podczas gdy w grupie kontrolnej było to odpowiednio 14%, 14% i 0%.

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
(~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>TCh [mg/dl] (~)</b>			<b>0,015990</b>
<i>średnia±SD</i>	209,1±46,0	174,2±17,2	
<i>mediana</i>	200,2	168,3	
- % pacjentek z wynikiem w normie	55%	86%	
- % pacjentek z wynikiem powyżej normy	45%	14%	
<b>LDL [mg/dl] (~)</b>			<b>0,007145</b>
<i>średnia±SD</i>	131,9±40,5	101,5±18,4	
<i>mediana</i>	128,6	101,7	
- % pacjentek z wynikiem w normie	50%	86%	
- % pacjentek z wynikiem powyżej normy	50%	14%	
<b>HDL [mg/dl] (~)</b>			0,053138
<i>średnia±SD</i>	73,2±18,2	63,0±10,4	
<i>mediana</i>	70,1	63,0	
- % pacjentek z wynikiem w normie	50%	86%	
- % pacjentek z wynikiem powyżej normy	50%	14%	
<b>TG [mg/dl]</b>			<b>0,030721</b>
<i>średnia±SD</i>	91,7±45,5	65,2±19,3	
<i>mediana</i>	86,7	66,3	
- % pacjentek z wynikiem w normie	95%	100%	
- % pacjentek z wynikiem powyżej normy	5%	-	

Tabela 5-4 Profil lipidowy u pacjentek z grupy badanej i kontrolnej

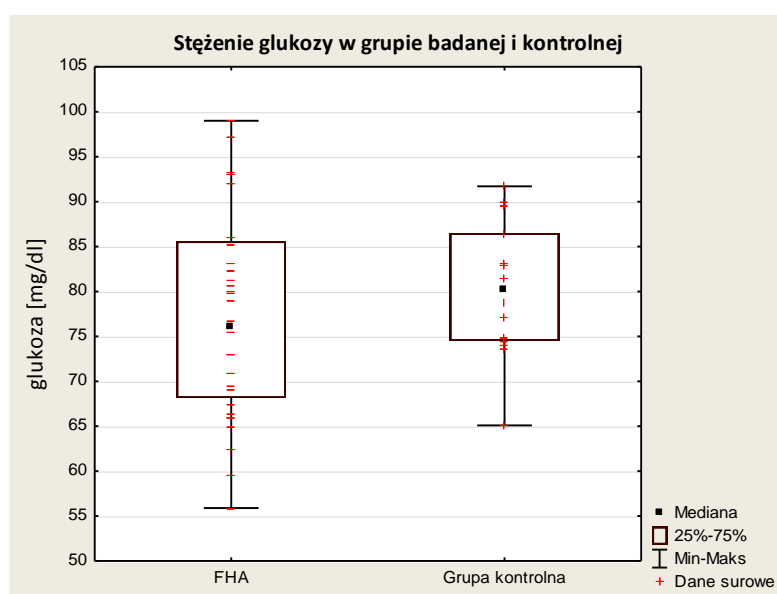


Wykres 5-7 Stężenia TCh, LDL, HDL i TG w osoczu w grupie badanej i kontrolnej.

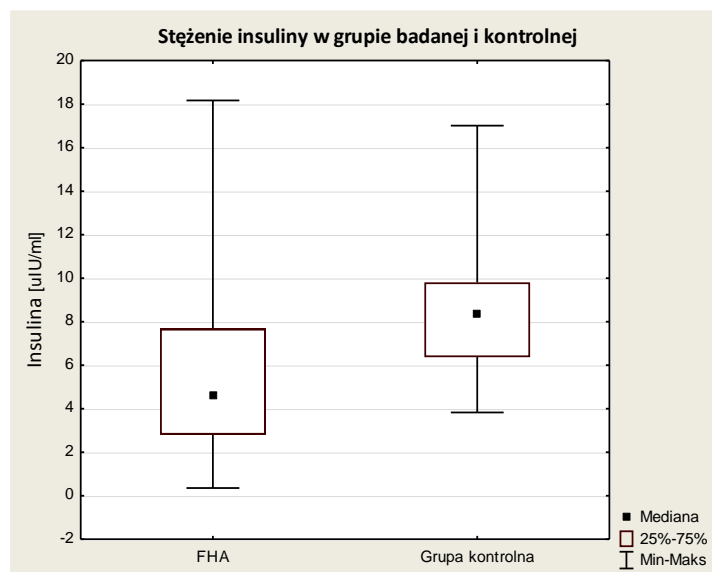
Do innych analizowanych parametrów metabolicznych należały stężenia glukozy i insuliny na czczo oraz wyliczony na ich podstawie współczynnik insulinooporności HOMA-IR (Tabela 5-5). Stężenia glukozy były takie same dla obu analizowanych grup (średnio  $77,1 \pm 11,5$  mg/dl dla FHA vs.  $80,2 \pm 7,6$  mg/dl dla grupy kontrolnej) i w żadnej z grup nie stwierdzono przypadku z hiperglikemią na czczo (porównaj dane surowe - Wykres 5-8). Odnotowano natomiast znamienne różnice w stężeniach insuliny (średnia stężenie  $5,77 \pm 4,16$   $\mu$ U/ml dla FHA vs.  $8,37 \pm 3,18$   $\mu$ U/ml w grupie kontrolnej,  $p < 0,05$ , Wykres 5-9) oraz w wartości współczynnika HOMA: mediana 1,0 dla FHA i 1,6 dla grupy kontrolnej ( $p < 0,05$ ; porównaj Tabela 5-5).

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
(~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
Glukoza [mg/dl] (~)			0,294672
średnia±SD	77,1±11,5	80,2±7,6	
mediana	76,2	80,1	
Insulina [μU/ml] (~)			<b>0,009225</b>
średnia±SD	5,77±4,16	8,37±3,18	
mediana	4,66	8,35	
HOMA			<b>0,011124</b>
średnia±SD	1,2±1,0	1,67±0,74	
mediana	1,00	1,60	

Tabela 5-5 Stężenia glukozy, insuliny i wartość HOMA w grupie badanej i kontrolnej.



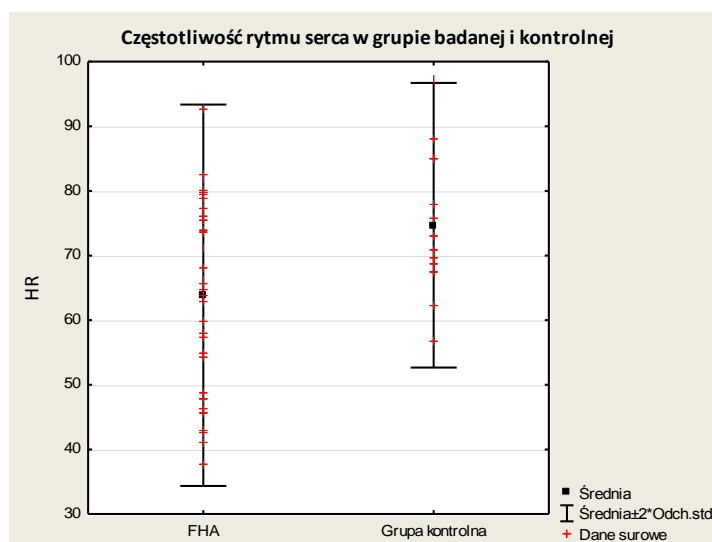
Wykres 5-8 Stężenia glukozy w grupie badanej i kontrolnej.



Wykres 5-9 Stężenia insuliny w surowicy w grupie badanej i kontrolnej.

### 5.3 CZĘSTOTLIWOŚĆ RYTMU SERCA

W badaniu wykazano różną częstotliwość rytmu serca dla grupy FHA (średnio  $64 \pm 15$ /min) i grupy kontrolnej (średnio  $75 \pm 11$ /min.,  $p=0,016423$ ) zmierzoną w warunkach doświadczalnych (porównaj Wykres 5-10).



Wykres 5-10 Częstotliwość rytmu serca w grupie badanej i kontrolnej

#### 5.4 ANALIZA OBWODOWYCH PARAMETRÓW HEMODYNAMICZNYCH.

Analiza ciśnień obwodowych nie wykazała istotnych różnic dla parametrów mierzonych: PSP, PDP oraz wyliczonych: PMP, PPP (porównaj Tabela 5-6).

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
<b>Ciśnienie obwodowe [mmHg]</b> (~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>Skurczowe PSP (~)</b>			0,367607
<i>średnia±SD</i>	101,6±9,9	104,7±13,3	
<i>mediana</i>	99,1	106,3	
<b>Rozkurczowe PDP</b>			0,991380
<i>średnia±SD</i>	60,8±7,6	60,1±6,9	
<i>mediana</i>	60,3	60,1	
<b>Średnie PMP</b>			0,509892
<i>średnia±SD</i>	74,6±8,7	76,5±9,1	
<i>mediana</i>	72,3	74,7	
<b>Tętna PPP</b>			0,138857
<i>średnia±SD</i>	40,8±6,2	44,6±9,6	
<i>mediana</i>	41,1	48,2	

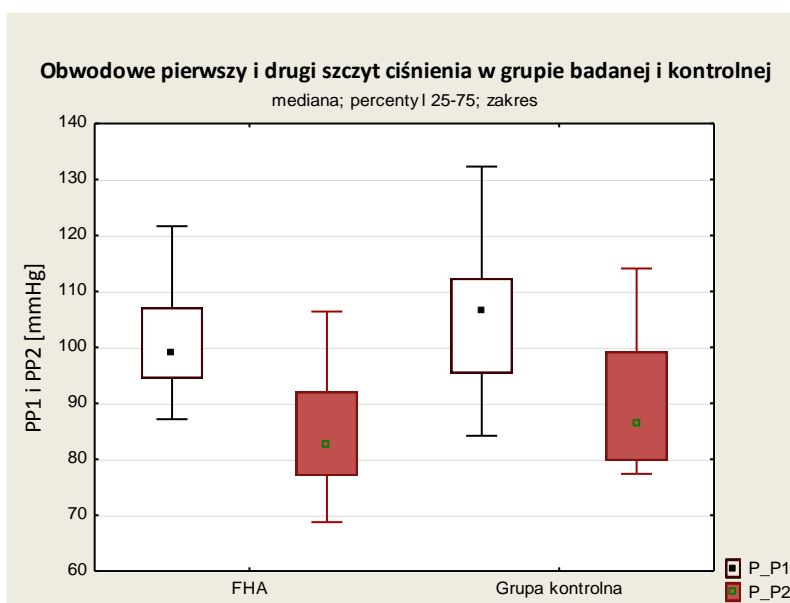
Tabela 5-6 Wartości ciśnień obwodowych dla grupy badanej i kontrolnej

Podobnie, nie wykazano istotnych różnic dla mierzonych wartości opisujących obwodową falę tętna (porównaj Tabela 5 7). Zarówno pierwszy, jak i drugi szczyt ciśnienia skurczowego były nieistotnie niższe w grupie FHA, w stosunku do grupy kontrolnej (Wykres 5 11).

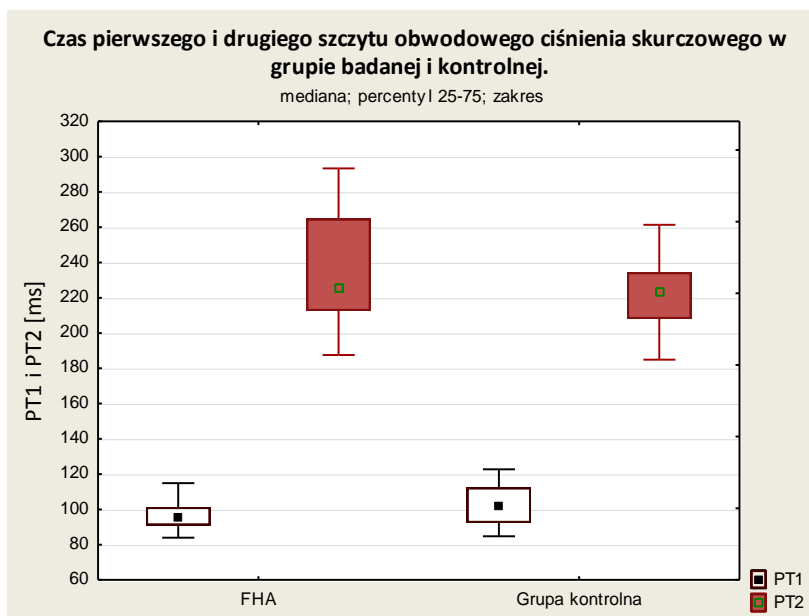
Obwodowy czas wystąpienia pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego wykazywał natomiast statystyczną tendencję do wcześniejszego występowania w grupie pacjentek z podwzgórzycą (96,5±7,2 ms dla FHA vs 101,8±11,9 ms w grupie kontrolnej, p=0,06, porównaj Wykres 5-12).

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
<b>Obwodowe</b> (~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>Pierwszy szczyt ciśnienia skurczowego PP1 [mmHg] (~)</b> <i>średnia±SD</i> <i>mediana</i>	101,6±9,9 99,1	104,7±13,3 106,3	0,367607
<b>Drugi szczyt ciśnienia skurczowego PP2 [mmHg]</b> <i>średnia±SD</i> <i>mediana</i>	85,3±11,4 99,1	90,5±12,9 86,4	0,191142
<b>Czas pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego PT1 [ms] (~)</b> <i>średnia±SD</i> <i>mediana</i>	96,5±7,2 95,5	101,8±11,9 102,1	<b>0,057265</b>
<b>Czas drugiego szczytu ciśnienia skurczowego PT2 [ms]</b> <i>średnia±SD</i> <i>mediana</i>	237,1±32,1 225,7	219,1±28,0 223,1	0,156998

Tabela 5-7 Wartości ciśnień oraz czasy wystąpienia pierwszego i drugiego szczytu ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej.

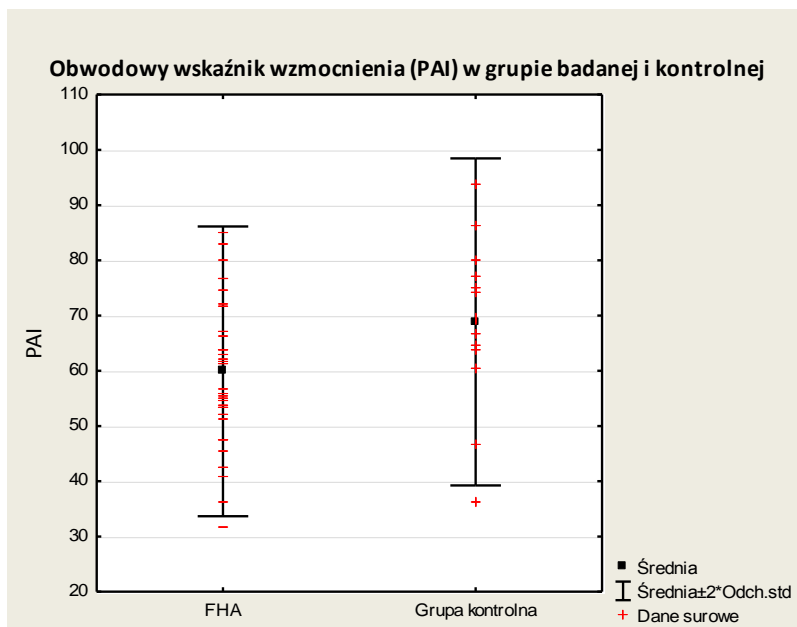


Wykres 5-11 Pierwszy i drugi szczyt ciśnienia obwodowego w grupie badanej i kontrolnej.



Wykres 5-12 Czas pierwszego i drugiego szczytu obwodowego ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej.

Co istotne, jeden z najważniejszych wskaźników opisujących falę tętna obwodowego, czyli wskaźnik wzmocnienia (PAI) był istotnie niższy w grupie pacjentek z rozpoznaniem podwzgórzowym brakiem miesiączki ( $59,9 \pm 13,1$ ) w stosunku do grupy kontrolnej ( $68,8 \pm 14,8$ ;  $p=0,041794$ , porównaj Wykres 5-13).



Wykres 5-13 Obwodowy wskaźnik wzmocnienia (PAI) w grupie badanej i kontrolnej.

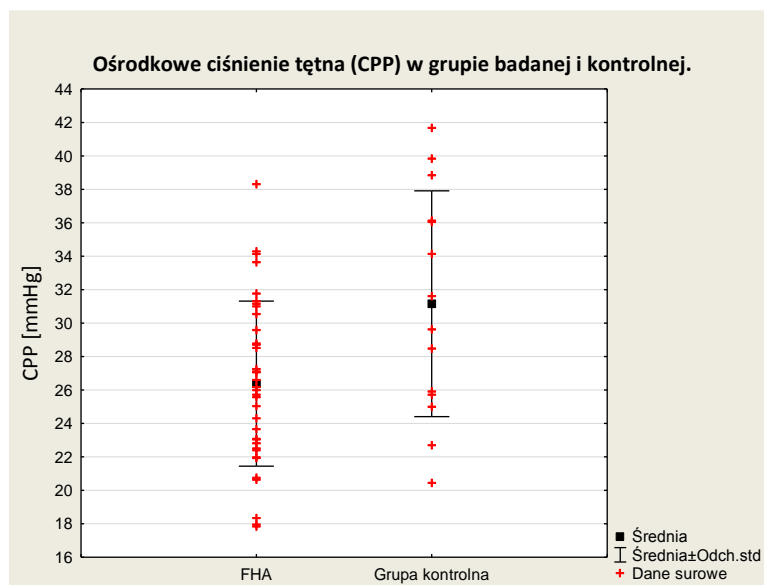


## 5.5 ANALIZA OŚRODKOWYCH PARAMETRÓW HEMODYNAMICZNYCH

Użycie funkcji transferowych aparatu Sphygmocor MX pozwoliło oszacować parametry przepływu w aorcie wstępującej przy użyciu nieinwazyjnej analizy tętna na tętnicy promieniowej. Podobnie jak ciśnienia na tętnicy promieniowej, ośrodkowe ciśnienie skurczowe, rozkurczowe oraz średnie były podobne w obu analizowanych grupach (porównaj Tabela 1-1). Jednak parametr wyliczony, czyli ciśnienie tętna był w aorcie istotnie niższy w grupie pacjentek z FHA w stosunku do grupy kontrolnej (średnio  $26,4 \pm 4,9$  mmHg dla FHA i  $31,2 \pm 6,8$  mmHg dla grupy kontrolnej,  $p < 0,05$ , Wykres 5-14).

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
<b>Ciśnienie ośrodkowe [mmHg]</b> (~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>Skurczowe CSP</b>			0,191142
<i>średnia<math>\pm</math>SD</i>	88,2 $\pm$ 10,0	92,7 $\pm$ 11,7	
<i>mediana</i>	85,5	90,0	
<b>Rozkurczowe CDP (~)</b>			0,903924
<i>średnia<math>\pm</math>SD</i>	61,8 $\pm$ 7,8	61,5 $\pm$ 7,1	
<i>mediana</i>	61,3	61,5	
<b>Średnie CMP</b>			0,509892
<i>średnia<math>\pm</math>SD</i>	74,6 $\pm$ 8,7	76,5 $\pm$ 9,1	
<i>mediana</i>	61,3	74,7	
<b>Tętna CPP (~)</b>			<b>0,008011</b>
<i>średnia<math>\pm</math>SD</i>	26,4 $\pm$ 4,9	31,2 $\pm$ 6,8	
<i>mediana</i>	26,1	30,6	

Tabela 5-8. Ośrodkowe ciśnienie skurczowe, rozkurczowe, średnie oraz tętna w grupie badanej i kontrolnej.

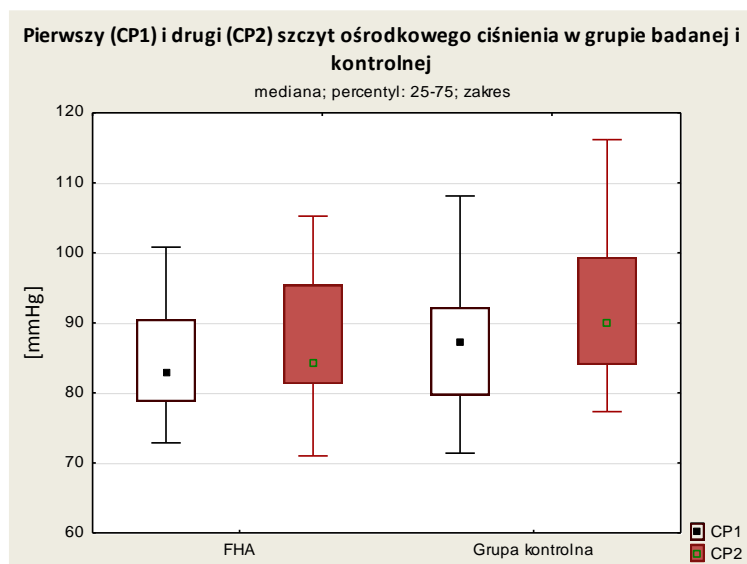


Wykres 5-14. Ośrodkowe ciśnienie tętna (CPP) w grupie FHA i badanej.

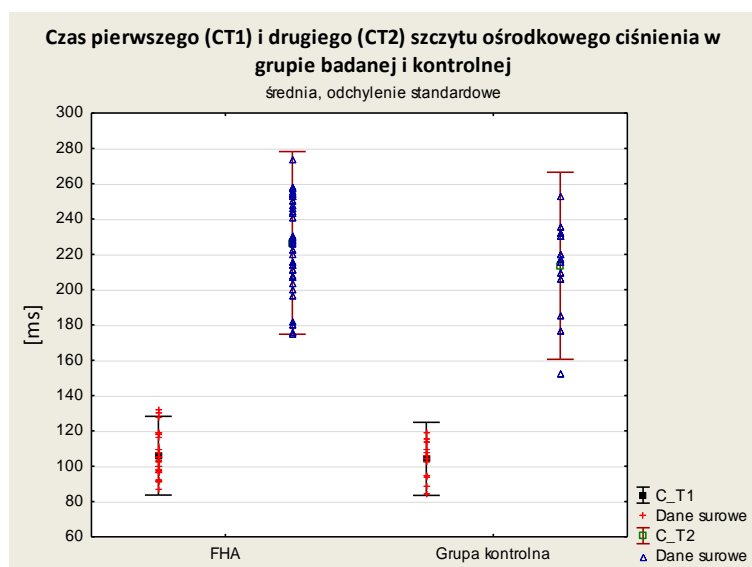
Analiza kształtu fali tętna w aorcie wstępującej nie wykazała istotnych różnic między kobietami z podwzgórzowym brakiem miesiączki, a grupą *eumenorrhea* (Tabela 5-9). Zarówno wartości (Wykres 5-15), jak i czasy (Wykres 5-16) pierwszego i drugiego szczytu ośrodkowej fali tętna były porównywalne między grupami.

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna	p
Ośrodkowe (~) - rozkład normalny	N=36	N=14	
<b>Pierwszy szczyt ciśnienia CP1 [mmHg]</b>			0,566930
średnia±SD	84,8±8,6	86,7±10,2	
mediana	82,3	90,0	
<b>Drugi szczyt ciśnienia CP2 [mmHg]</b>			0,170055
średnia±SD	87,9±10,2	92,7±11,7	
mediana	84,3	90,0	
<b>Czas pierwszego szczytu ciśnienia CT1 [ms]</b>			0,601463
(~)			
średnia±SD	106,0±11,1	104,2±10,3	
mediana	105,1	106,3	
<b>Czas drugiego szczytu ciśnienia CT2 [ms] (~)</b>			0,121625
średnia±SD	226,5±25,9	213,5±26,5	
mediana	227,7	219,0	

Tabela 5-9 Wartości ciśnień oraz czasy wystąpienia pierwszego i drugiego szczytu ośrodkowego ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej.



Wykres 5-15 Pierwszy i drugi szczyt ciśnienia ośrodkowego w grupie badanej i kontrolnej

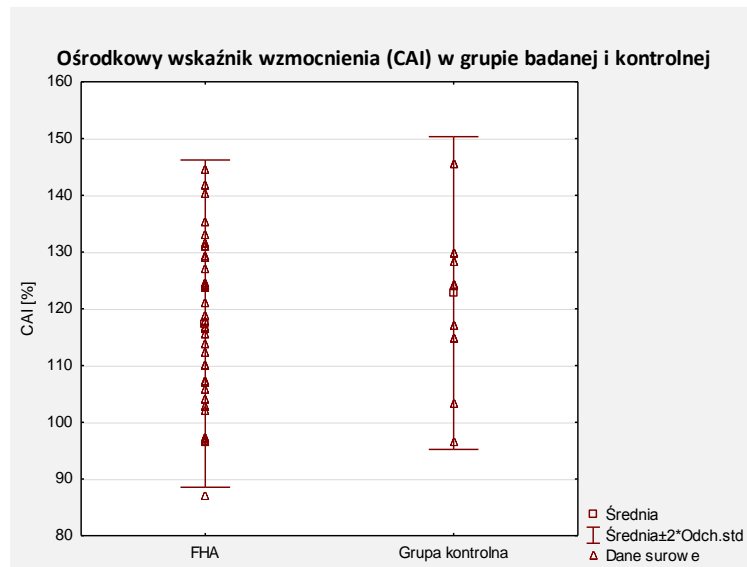


Wykres 5-16 Czas pierwszego i drugiego szczytu ośrodkowego ciśnienia skurczowego w grupie badanej i kontrolnej.

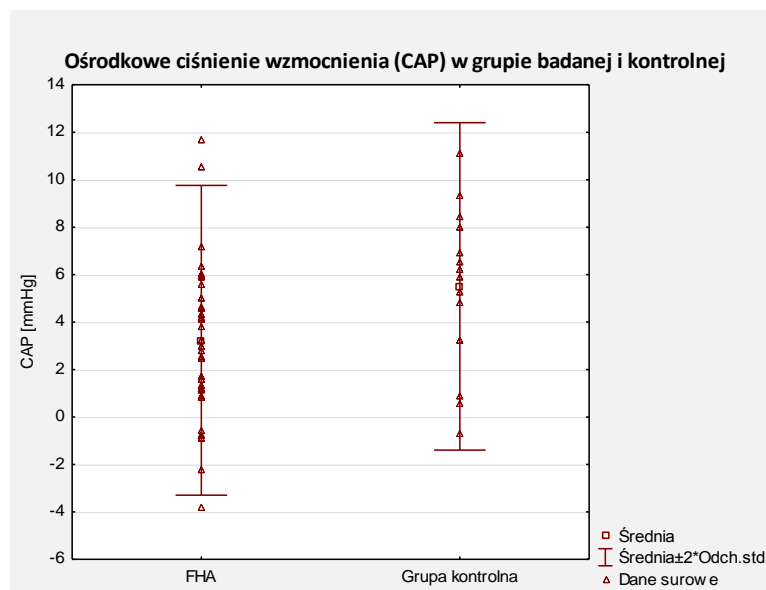
Pomiar fali tętna na tętnicy promieniowej pozwolił też oszacować czas wyrzutu (ED). W obu grupach czas ten był podobny ( $327,0 \pm 24,5$  ms w grupie FHA vs  $321,3 \pm 22,0$  ms;  $p=0,45$ ).

Na podstawie wyliczonych ciśnień w aorcie możliwe było wyliczenie wskaźnika (CAI) i ciśnienia (CAP) wzmocnienia. Miały one niższe wartości w grupie z rozpoznaną podwzgórzycą, w stosunku do grupy kontrolnej. Wskaźnik wzmocnienia na poziomie aorty wykazywał tendencję do niższych o ok. 11% wartości w grupie FHA ( $114,2 \pm 13,9\%$ ) w stosunku do kobiet zdrowych ( $122,4 \pm 14,3\%$   $p=0,07$ ). Bezwzględna różnica dla ciśnienia wzmocnienia była niższa w grupie badanej o ok. 2 mmHg ( $3,0 \pm 3,3$  mmHg w grupie FHA vs  $5,5 \pm 3,4$  mmHg dla grupy kontrolnej,  $p=0,03$ ). Powyższe zależności przedstawiono na wykresach (Wykres 5-17, Wykres 5-18). Warto zauważyć z rozkładu danych

surowych przedstawionego na wykresie 5-18, że u niektórych pacjentek z FHA wartości ciśnienia wzmocnienia miały wartości ujemne, co świadczy o zmniejszaniu szczytowego ciśnienia skurczowego w aorcie przez falę zwrotną.



Wykres 5-17 Ośrodkowy wskaźnik wzmocnienia (CAI) w grupie badanej i kontrolnej



Wykres 5-18 Ośrodkowe ciśnienie wzmocnienia (CAP) w grupie badanej i kontrolnej

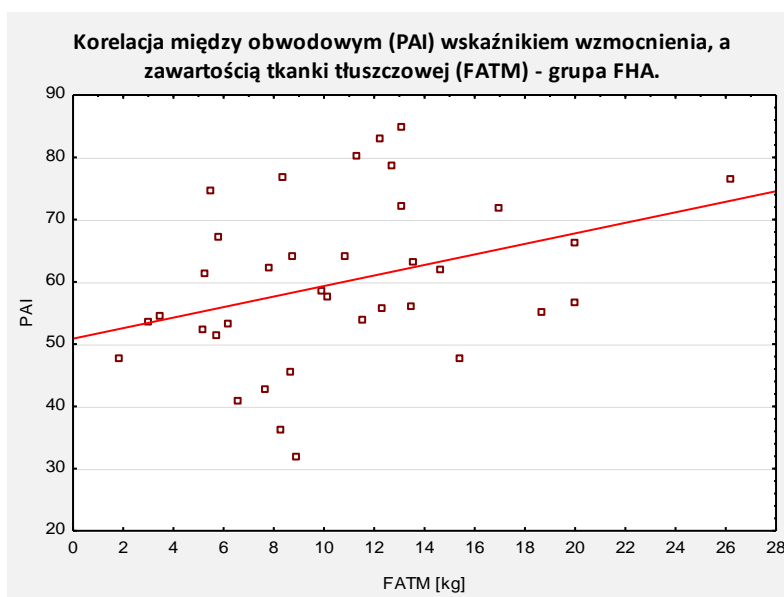
## 5.7 ANALIZA KORELACYJNA

W analizie zależności między badanymi cechami wzięto pod uwagę wskaźniki różniące grupę kobiet z FHA i grupę kontrolną, które mogą potencjalnie wpływać na czynność układu sercowo-naczyniowego: BMI, LH, estradiol, testosteron, insulina, HOMA, TSH, TCh, LDL, HDL, TG, bezwzględna zawartość tkanki tłuszczowej (FATM). Cechy te zbadano następnie w kontekście możliwego wpływu na najważniejsze parametry sztywności naczyń: obwodowe i ośrodkowe ciśnienie tętna (PPP, CPP), obwodowy i ośrodkowy wskaźnik wzmocnienia (PAI i CAI).

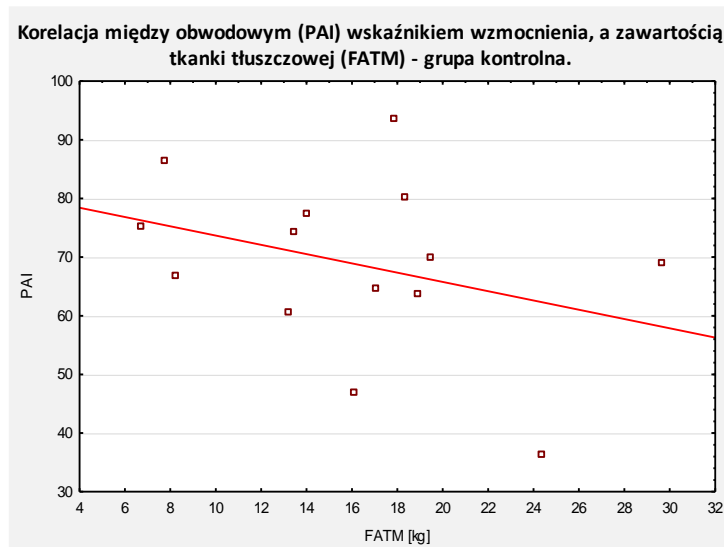
### 5.7.1 Wskaźniki antropometryczne

Nie wykazano zależności w żadnej z badanych grup między wartością BMI, a analizowanymi wskaźnikami sztywności naczyń obwodowych (PPP, PAI) oraz aorty (CPP, CAI).

Stwierdzono natomiast zależność między zawartością tkanki tłuszczowej (FATM), a PAI w grupie badanej ( $r=0,38$ ,  $p<0,05$ , porównaj Wykres 5-19) oraz PPP i CPP w grupie kontrolnej ( $r=0,64$  dla PPP i  $r=0,58$  dla CPP,  $p<0,05$ , porównaj Wykres 5-20).



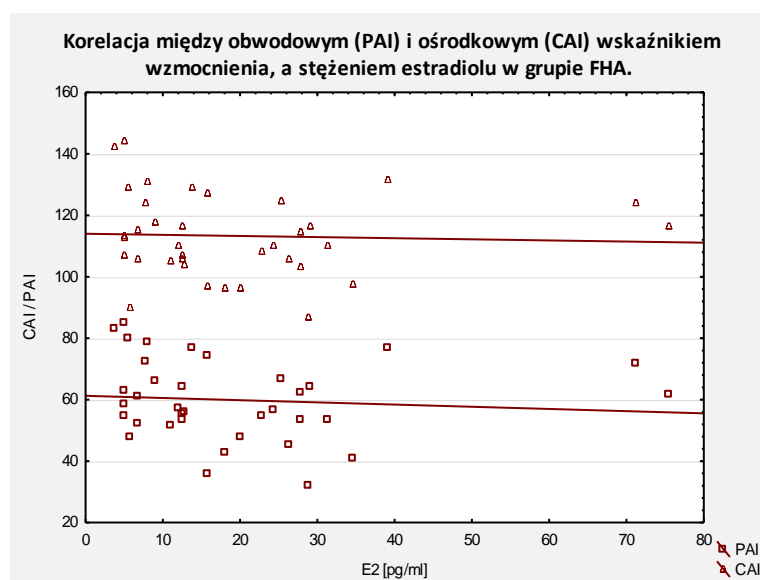
Wykres 5-19 Korelacja między obwodowym (PAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a zawartością tkanki tłuszczowej - grupa FHA.



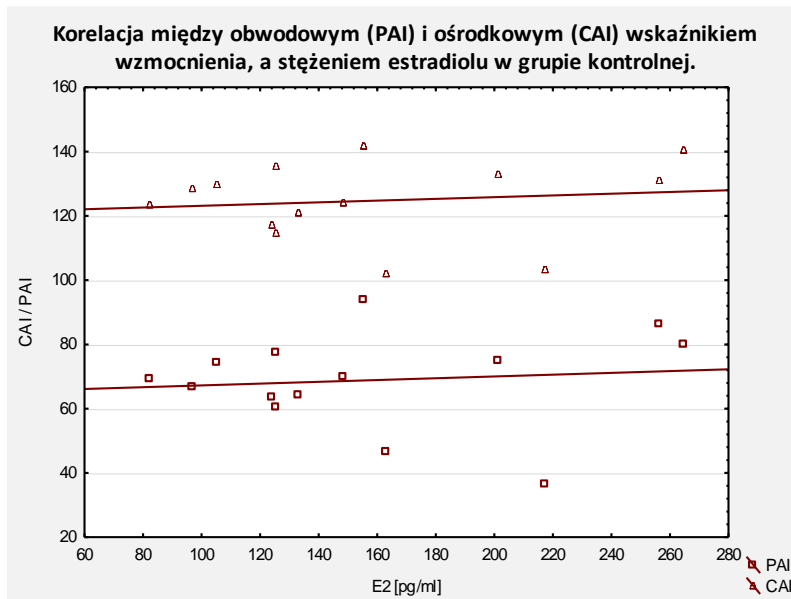
Wykres 5-20 Korelacja między obwodowym (PAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a zawartością tkanki tłuszczowej - grupa kontrolna.

### 5.7.2 Stężenia hormonów

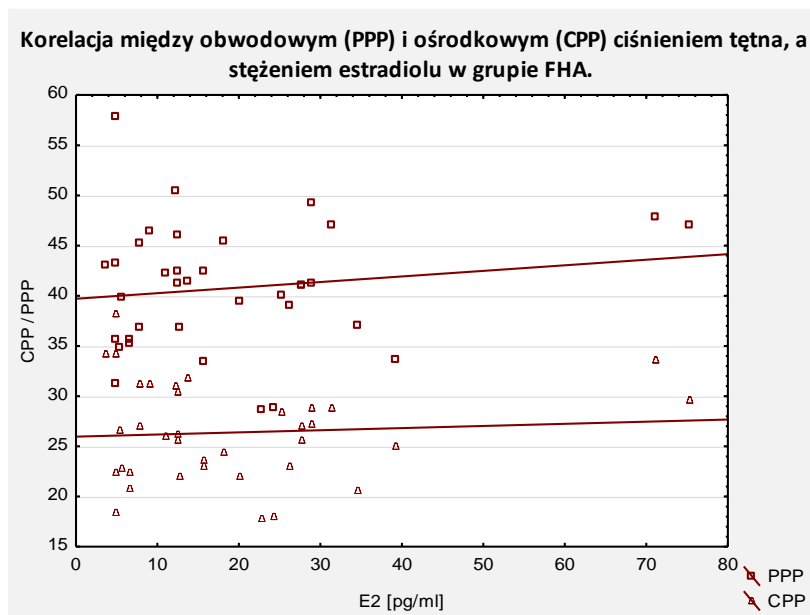
W analizie korelacji Spearmana nie wykazano istotnej zależności między stężeniami estradiolu, a badanymi wskaźnikami sztywności naczyń. Dla grupy badanej współczynnik Spearmana dla estradiolu wynosił: 0,09 dla PPP; 0,09 dla CPP; 0,21 dla CAI; 0,00 dla CAP i 0,26 dla PAI ( $p > 0,05$  dla wszystkich korelacji). Zależność między wskaźnikami ciśnienia oraz stężeniami estradiolu obrazują: Wykres 5-21 dla grupy FHA oraz Wykres 5-22 dla grupy kontrolnej. Natomiast zależność między stężeniami estradiolu, a ciśnieniami tętna przedstawia Wykres 5-23 dla FHA i Wykres 5-24 dla grupy kontrolnej.



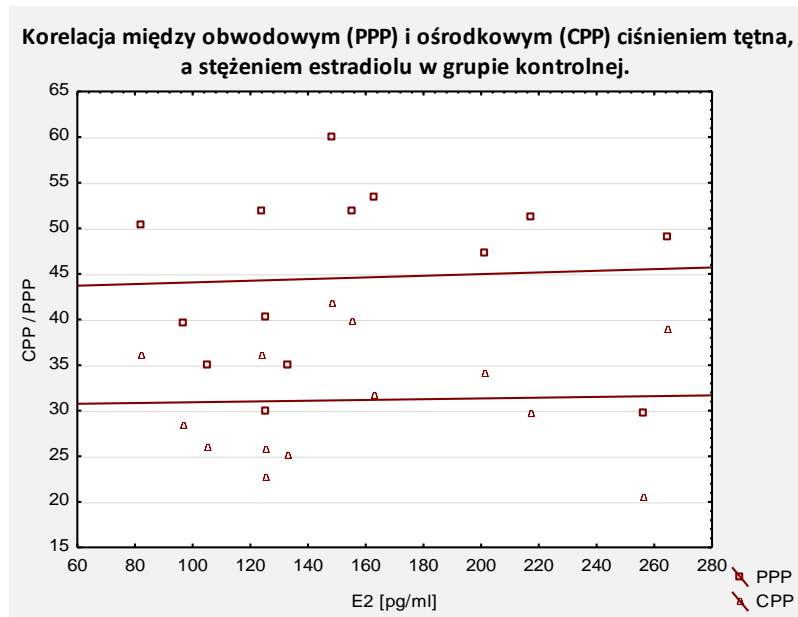
Wykres 5-21 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a stężeniem estradiolu (E2) w grupie FHA.



Wykres 5-22 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a stężeniem estradiolu (E2) w grupie kontrolnej.



Wykres 5-23 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a stężeniem estradiolu (E2) w grupie FHA.



Wykres 5-24 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a stężeniem estradiolu w grupie kontrolnej.

W nieparametrycznej analizie statystycznej nie wykazano istotnej zależności wartości wskaźników sztywności naczyń od stężeń LH dla żadnej z grup (porównaj Tabela 5-10).

Parametr	PPP	PAI	CAI	CPP	p
LH [mIU/ml] FHA	0,189537	-0,196117	-0,162442	0,000129	Dla wszystkich zależności p>0,05
LH [mIU/ml] grupa kontrolna	0,068132	0,076923	0,024176	0,098901	

Tabela 5-10. Współczynniki korelacji r Spearmana dla stężeń LH i PPP, PAI, CAI, CPP.



Podobnie nie stwierdzono korelacji między stężeniami TSH oraz PRL, a badanymi wykładnikami obwodowej i ośrodkowej sztywności naczyń (porównaj Tabela 5-11).

Parametr	PPP	PAI	CAI	CPP	p
TSH [ $\mu$ IU/ml] FHA	0,218161	-0,053671	-0,026643	0,107343	Dla wszystkich zależności $p > 0,05$
TSH [ $\mu$ IU/ml] grupa kontrolna	0,287912	0,138462	0,156044	0,397802	
PRL [ng/ml] FHA	0,173628	0,061265	0,090225	0,246219	
PRL [ng/ml] grupa kontrolna	-0,261538	0,336264	0,296703	-0,076923	

Tabela 5-11 Współczynniki korelacji  $r$  Spearmana dla stężeń TSH, PRL i PPP, PAI, CAI, CPP.

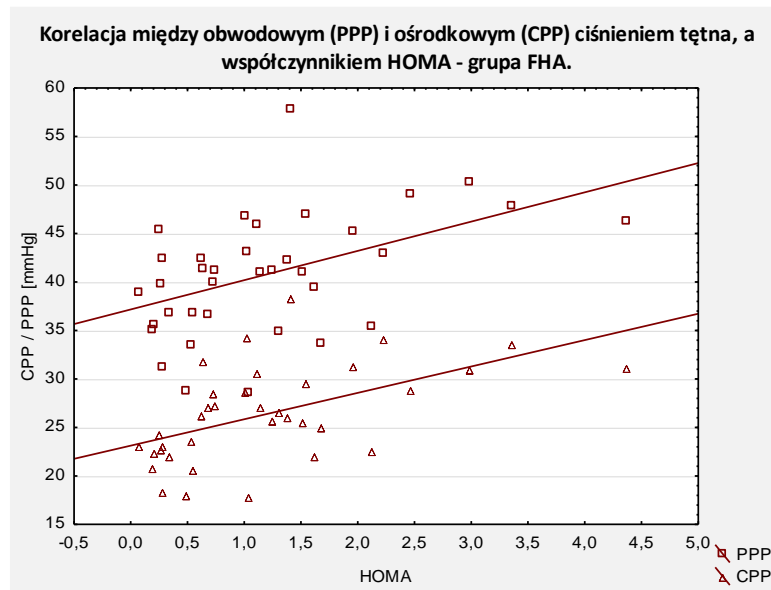
Oznaczone stężenia androgenów również nie wykazywały korelacji z badanymi parametrami, wykazywały jednak tendencję do zależności ujemnej (porównaj Tabela 5-12).

Parametr	PPP	PAI	CAI	CPP	p
Testosteron [ng/ml] FHA	-0,194631+	-0,185678*	-0,191463*	-0,293912+	Dla wszystkich zależności $p > 0,05$
Testosteron [ng/ml] grupa kontrolna	0,085966+	-0,153829*	-0,240642*	-0,048685+	
DHEAS [ $\mu$ mol/l] FHA	0,032465+	-0,003306*	-0,032588*	-0,012823+	
DHEAS [ $\mu$ mol/l] grupa kontrolna	-0,018806+	0,222994*	0,106320*	0,109892+	

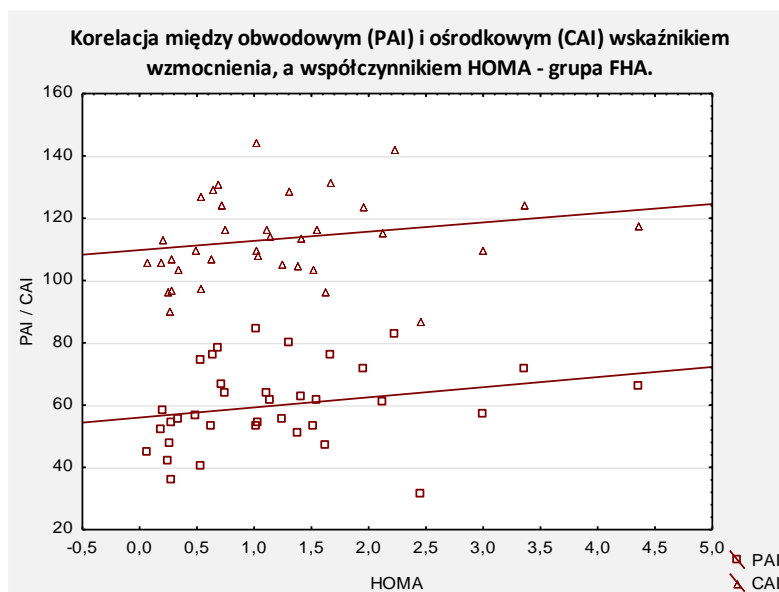
Tabela 5-12 Współczynniki korelacji  $r$  Spearmana (\*) i Pearsona (+) dla stężeń Testosteronu, DHEAS i PPP, PAI, CAI, CPP.

### 5.7.3 Parametry metaboliczne

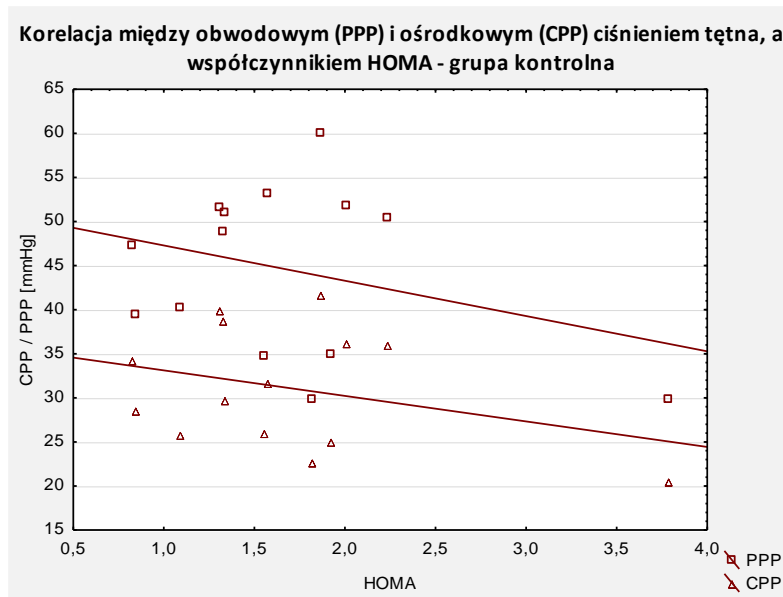
Analiza korelacyjna wykazała, że istotnym czynnikiem korelującym z parametrami sztywności, szczególnie w grupie badanej jest wskaźnik insulinooporności HOMA. W grupie badanej wykazano istotną zależność między HOMA, a PPP ( $r=0,48$ ); PAI ( $r=0,35$ ); CPP ( $r=0,58$ ). Nie potwierdzono jej natomiast w grupie z FHA dla CAI (porównaj Wykres 5-25, Wykres 5-26). Co ciekawe zależności tych nie potwierdzono w grupie kontrolnej (wartości współczynnika korelacji Spearmana:  $-0,02$  dla PPP;  $0,00$  dla PAI;  $-0,15$  dla CPP i  $-0,21$  dla CAI, Wykres 5-27, Wykres 5-28).



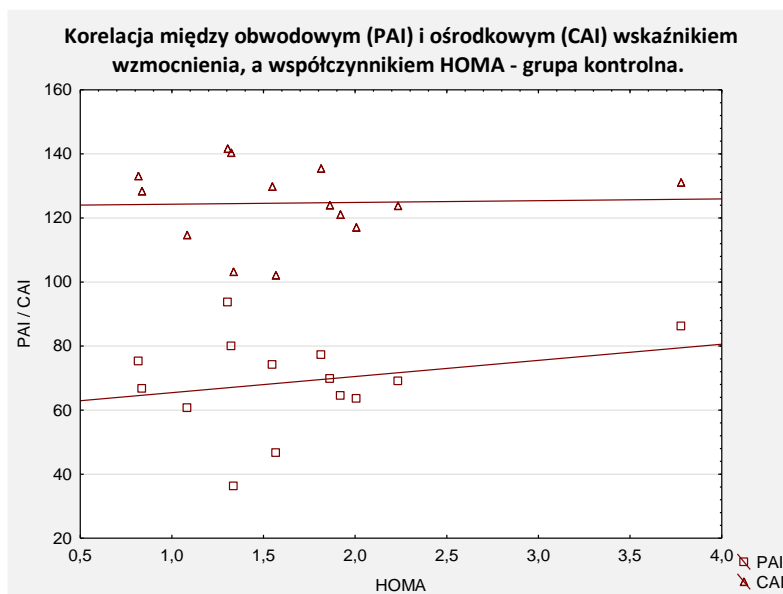
Wykres 5-25 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a współczynnikiem HOMA - grupa FHA.



Wykres 5-26 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikami wzmocnienia, a współczynnikiem HOMA - grupa FHA.



Wykres 5-27 Korelacja między obwodowym (PPP) i ośrodkowym (CPP) ciśnieniem tętna, a współczynnikiem HOMA - grupa kontrolna.



Wykres 5-28 Korelacja między obwodowym (PAI) i ośrodkowym (CAI) wskaźnikiem wzmocnienia, a współczynnikiem HOMA - grupa kontrolna.

Wpływ stężeń insuliny na badane parametry sztywności naczyń był mniej zaznaczony. Stwierdzono go w grupie badanej jedynie dla ciśnień tętna:  $r=0,44$  dla PPP i  $r=0,49$  dla CPP. Nie potwierdzono natomiast dla wskaźników wzmocnienia:  $0,26$  dla PAI  $p>0,05$  i  $r=0,23$  dla CAI  $p>0,05$ . W grupie kontrolnej nie wykazano istotnej zależności między stężeniami insuliny a wykładnikami sztywności naczyń ( $r=-0,01$  dla PPP;  $r=0,09$  dla PAI,  $r=-0,09$  dla CPP i  $r=-0,12$  dla CAI;  $p$  dla wszystkich zmiennych  $>0,05$ ).

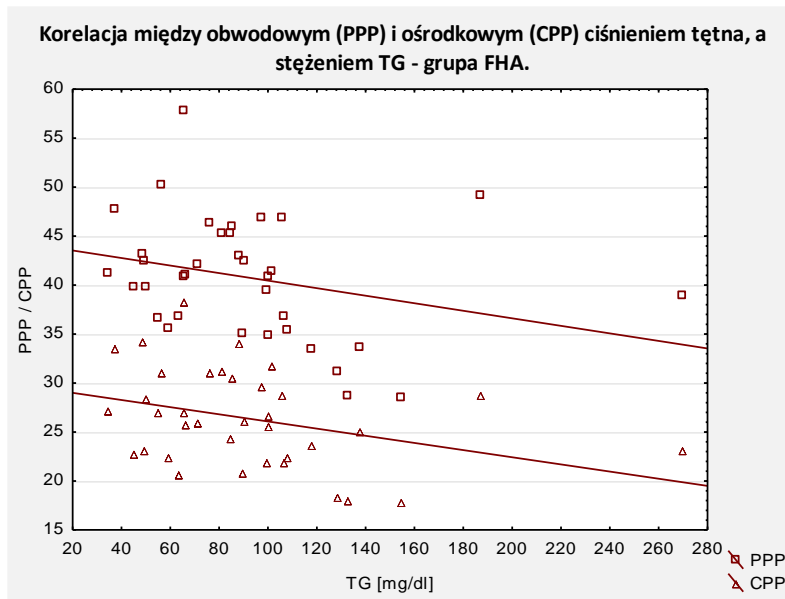
W analizie porównawczej wykazano znaczne różnice w profilu lipidowym między grupą pacjentek badanych, a kontrolą (porównaj Tabela 5-4).

W badaniu korelacji nie wykazano jednak wielu zależności między stężeniami poszczególnych frakcji lipidowych, a zmiennymi opisującymi ośrodkową i obwodową fałę tętna. Stężenia cholesterolu oraz jego frakcji niskiej i wysokiej gęstości nie wykazywały istotnej zależności z PPP, CPP, PAI i CAI (porównaj Tabela 5-13).

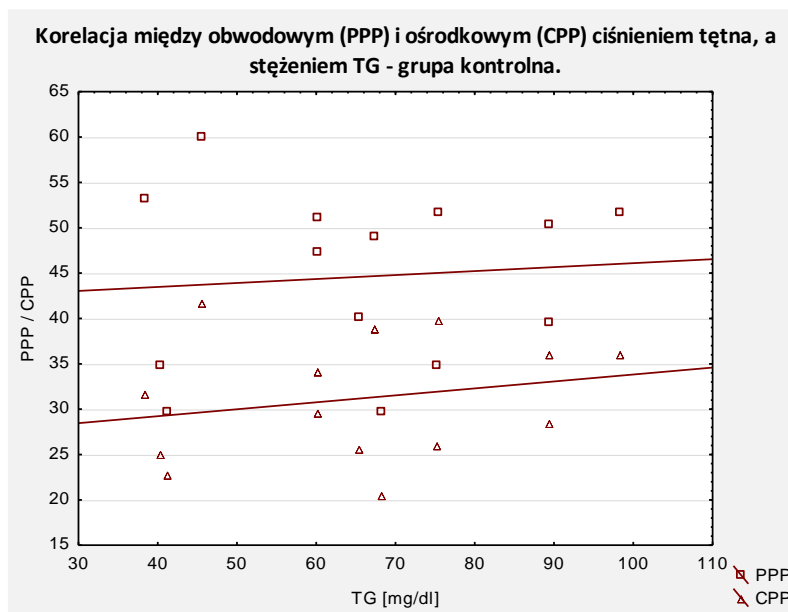
Jedynie stężenia TG wykazywały wpływ na ciśnienie tętna w grupie badanej, lecz nie w kontrolnej. Ta frakcja lipidowa nie wykazywała jednak zależności z żadnym z wskaźników wzmocnienia w obu grupach (por. Wykres 5-29 i Wykres 5-30).

Parametr	PPP	PAI	CAI	CPP
TG [mg/dl] FHA	<b>-0,379408</b> <b>P&lt;0,05</b>	-0,165251 *	-0,104505 *	<b>-0,369112</b> <b>P&lt;0,05</b>
TG [mg/dl] grupa kontrolna	-0,006593 *	0,226374 *	0,230769 *	0,261538 *
TCh [mg/dl] FHA	-0,124402 *	0,071500 *	0,124622 *	-0,086469 *
TCh [mg/dl] grupa kontrolna	0,197845 *	-0,056917 *	0,105048 *	0,256570 *
LDL [mg/dl] FHA	-0,001176 *	0,088191 *	0,125959 *	0,026655 *
LDL [mg/dl] grupa kontrolna	0,238197 *	0,053386 *	0,137889 *	0,287663 *
HDL [mg/dl] FHA	0,100226 *	0,057840 *	0,128825 *	0,152667 *
HDL [mg/dl] grupa kontrolna	-0,116571 *	-0,268655 *	-0,143384 *	-0,143646 *

Tabela 5-13 Współczynnik korelacji Pearsona dla stężeń TG, TCh, LDL i HDL, a wskaźnikami PPP, CPP, CAI, PAI w grupie badanej i kontrolnej. \* -  $p > 0,05$



Wykres 5-29 Korelacja między PPP i CPP, a stężeniem TG w surowicy w grupie FHA



Wykres 5-30 Korelacja między PPP i CPP, a stężeniem TG w surowicy - grupa kontrolna.

## 6 DYSKUSJA

---

### 6.1 HIPOESTROGENIZM I ZABURZENIA CYKLU JAKO CZYNNIK RYZYKA CHOROÓB SERCOWO-NACZYNIOWYCH

Choroby układu krążenia są wiodącą przyczyną zgonów u kobiet w wieku przedmenopauzalnym w krajach rozwiniętych [103,104] i mimo że poznano pewne zależności między stężeniami estrogenów, a czynnością serca i naczyń (porównaj 1.4.1 wyżej), wpływ hipostenozenu na ryzyko sercowo-naczyniowe wciąż nie jest w pełni poznany.

Zgodnie z danymi z piśmiennictwa endogenne estrogeny w sposób plejotropowy wykazują działanie wazodylatacyjne, antyaterogenne i kardioprotekcyjne. Działanie to odbywa się na drodze genomowej oraz niegenomowej i obejmuje wpływ na czynność śródbłonna (synteza NO), mięśniówkę naczyń (wazodylatacja) i działanie przeciwzapalne [46-59]. Wykazano też modulację w zakresie czynności serca oraz wpływ na autonomiczną kontrolę układu krążenia [74-78].

W związku z powyższym w badaniu spodziewano się wykładników pogorszenia czynności układu sercowo-naczyniowego oraz pogorszenia właściwości elastycznych ściany naczyniowej u kobiet z głębokim hipostenozem na tle FHA. Szczególnie istotna dla tej tezy była seria badań wykonanych pod auspicjami Narodowego Instytutu Serca, Płuc i Krwi (*National Heart, Lung, and Blood Institute - NHLBI*) pod kryptonimem WISE (z ang. *Women's Ischemia Syndrome Evaluation – Ocena Zespołu Niedokrwienego u Kobiet*). Do tego badania włączono 95 kobiet poddawanych zabiegom koronarografii. W badaniu wykazano jednoznacznie, że hipostenozemia pochodzenia podwzgórzowego u kobiet przed menopauzą wiąże się z występowaniem choroby wieńcowej [79, 80]. Wyniki badania WISE znajdują też pośrednio potwierdzenie w innych publikacjach dotyczących hipostenozenu u kobiet w wieku przedmenopauzalnym. Hipostenozemia związana z zaburzeniami owulacji, nieregularnymi cyklami lub wtórnym brakiem miesiączki jest znanym czynnikiem progresji zmian niedokrwienych u kobiet przed menopauzą [2, 79, 80, 103, 105].

Trzeba podkreślić, że hipostenozemia u kobiet z FHA włączonych do badania trwała stosunkowo krótko ( $6\pm 2$  miesiące). Jeszcze istotniejszy jest fakt, że występowała u kobiet młodych (mediana wieku 23 lata) i trudno ją porównywać z hipostenozemią okresu perimenopauzy. Z drugiej strony wahania dotyczące sztywności naczyniowej i parametrów hemodynamicznych udało się wykazać w wielu doświadczeniach, w których oceniano zdecydowanie krótsze fluktuacje stężeń steroidów płciowych (porównaj niżej 6.3.1). Wielu autorów wykazało także, że występowanie incydentów sercowo-naczyniowych, takich jak zawał mięśnia sercowego lub napady dławicy piersiowej, pozostaje w związku z fazą cyklu miesięczkowego. Występują one częściej we wczesnej

fazie folikularnej cyklu, kiedy poziom estrogenów jest najniższy [54,53]. W badaniu kohortowym *Nurses Health Study* (NHS – z ang. Badanie Zdrowia Pielęgniarek), które objęło 82 439 kobiet, badano wpływ zaburzeń cyklu na rozwój choroby wieńcowej. Pacjentki deklarywały charakter cykli miesiączkowych w młodym wieku (20-35 roku życia) i były obserwowane przez 14 lat. Okazało się, że u kobiet które opisywały swoje cykle jako „bardzo nieregularne” lub „zawsze nieregularne”, ryzyko choroby wieńcowej było o 53% wyższe, w stosunku do kobiet z *eumenorrhea* [106]. Nawet po uwzględnieniu różnic wiekowych, w paleniu tytoniu i BMI, zaburzenia cyklu wciąż pozostawały istotnym czynnikiem determinującym zapadalność na chorobę wieńcową. W nowszym, choć mniejszym badaniu obserwacyjnym (n=15005, okres obserwacji = 5 lat) również wykazano zwiększoną zapadalność na chorobę wieńcową u kobiet z nieregularnymi cyklami, ale różnica ta nie miała istotności statystycznej po korekcie grup względem BMI [107].

W świetle przedstawionych badań wydaje się, że zasadne jest przypuszczenie, iż krótkotrwały hipostrogenizm u młodych kobiet może wpływać na ryzyko chorób sercowo-naczyniowych. Co więcej, istnieją też przesłanki pochodzące z badań obserwacyjnych pozwalające sądzić, że ocena ryzyka sercowo-naczyniowego u młodych kobiet, w tym m.in. parametrów badanych w niniejszej pracy, przekłada się na chorobowość i śmiertelność w późniejszym wieku. Davignus i wsp. [108] oceniali kohortę 7302 kobiet w wieku 18-39 lat bez chorób krążenia, przez okres 31 lat. Analizowano czy parametry takie jak skurczowe ciśnienie tętnicze, BMI, stężenie TCh, palenie i występowanie cukrzycy oraz niewielkich nieprawidłowości w zapisie elektrokardiograficznym w młodym wieku wpływają na śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych i całkowitej śmiertelności. W tak długiej obserwacji wykazano, że do czynników istotnie zwiększających śmiertelność z przyczyn sercowo naczyniowych i śmiertelność całkowitą należą: palenie (>10 papierosów dziennie, najsilniejszy predyktor), BMI oraz ciśnienie skurczowe [108].

## 6.2 PARAMETRY HEMODYNAMICZNE ORAZ WYKŁADNIKI SZTYWNOŚCI NACZYŃ W FHA.

W wynikach własnych nie wykazano istotnych różnic w obwodowych parametrach ciśnienia tętniczego między grupą badaną, a kontrolną. Co ciekawe, Wildman i wsp. [142] również nie zaobserwowali by w grupie osób młodych (20-40 lat) po odchudzaniu, zauważalne były różnice w średnim obwodowym ciśnieniu tętniczym. Nie wykazano też zależności między BMI lub przyrostem/spadkiem masy ciała, a sztywnością aorty. Podobnie jak w badaniu własnym, wykazano natomiast spadek ośrodkowych wskaźników sztywności naczyń [142].

W niniejszym badaniu wykazano statystycznie równe wartości ciśnienia skurczowego, rozkurczowego oraz średniego w aorcie w grupie FHA i grupie kontrolnej. Wyliczone wartości CDP i CSP

ciśnienia centralnego były też niższe o około 10-15 mmHg od analogicznych ciśnień oznaczonych na tętnicy promieniowej w grupie badanej i kontrolnej. Średnie ciśnienie tętnicze zmierzone na tętnicy promieniowej było natomiast równe obliczonej analogicznej wartości w aorcie. Wyniki te są zgodne z danymi z piśmiennictwa. Różnica między PDP/PSP, a CDP/CSP na poziomie 10-20 mmHg charakteryzuje zdrową młodą populację, natomiast mniejsze różnice (w zakresie 6-11 mmHg) są charakterystyczne dla osób z nadciśnieniem [109].

W badaniu własnym stwierdzono jednak, że ośrodkowe ciśnienie tętna – CPP, jest znamienne (o około 5 mmHg) niższe w grupie badanej, w stosunku do kobiet zdrowych. Podobnie istotnie niższa była średnia wartość CAP (o 2 mmHg) w grupie FHA. Centralny wskaźnik wzmocnienia nie był wprawdzie istotnie niższy w stosunku do grupy kontrolnej, ale wartość  $p=0,07$  wskazuje na statystyczną tendencję do niższych wartości, co koresponduje z obniżonym CPP i CAP.

Określenie znaczenia tych wyników w świetle danych literaturowych jest dość trudne, gdyż zdecydowana większość danych pochodzi z badań nad starszą populacją, lub grupami chorych o zwiększonym ryzyku sercowo-naczyniowym.

W wielu pracach wykazano, że ciśnienie skurczowe i tętna w aorcie koreluje z nasileniem zmian aterogennych w tętnicach wieńcowych i tętnicach szyjnych oraz przerostem lewej komory i jej dysfunkcją rozkurczową [110]. Co więcej, wartości ciśnienia ośrodkowego wykazują silniejszy związek z wykładnikami uszkodzeń narządów i naczyń końcowych niż wartości ciśnienia obwodowego [111, 112, 113]. Niektóre z badań wykazały wysoką wartość predykcyjną CPP, dla wystąpienia ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych, w szczególności zawału serca lub udaru mózgu (zakończonego lub nie śmiercią), przezskórnej angioplastyki wieńcowej lub pomostowania tętnic wieńcowych. Jankowski i wsp. [114] wykazali, że wzrost CPP o 10 mmHg w okresie 4,5 letnim był związany ze wzrostem ryzyka tych zdarzeń o 13%. W tym samym badaniu wykazano, że analiza centralnej fali tętna ma podobną wartość predykcyjną dla incydentów sercowo-naczyniowych, jak ocena frakcji wyrzutowej lewej komory.

W kontekście wyżej przedstawionych badań wydaje się, że wykazane zmniejszone wartości parametrów sztywności naczyń centralnych (CAP, CPP) wskazują na zmniejszone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych u pacjentek z FHA na tle odchudzania. Jednocześnie trzeba podkreślić, że wyniki badania Jankowskiego pochodzą z analizy populacji dużo starszej ( $n=1109$ , wiek  $57,5 \pm 10,1$  lat) obciążonej wieloma chorobami współistniejącymi, m.in. nadciśnieniem (75% badanych) i cukrzycą (14%) [114]. Również uzyskane wartości bezwzględne ciśnień centralnych były zdecydowanie wyższe. Średnie CPP w badaniu własnym wynosiło w grupie kontrolnej  $31,2 \pm 6,8$  mmHg, a w cytowanym



badaniu  $63,7 \pm 18,2$  mmHg. W związku z powyższym należy zachować dużą ostrożność w przekładaniu tych wniosków o wartości predykcyjnej CPP na badaną populację młodych kobiet.

Liczba badań nad centralnymi parametrami hemodynamicznymi u osób młodych jest stosunkowo mała, co jednak nie zmniejsza wartości pomiarów ośrodkowej fali tętna w tej populacji. Ekspercki konsensus opublikowany w *European Heart Journal* podkreśla, że pomiary ciśnienia obwodowego, w szczególności PPP i PSP mają małą wartość predykcyjną u osób młodych ze względu na możliwość przeszacowania ryzyka sercowego [82]. Stąd szczególnie w tej populacji wartościowe są pomiary centralnej fali tętna. Hulse i wsp. [115] analizowali wartości ciśnień ośrodkowych w populacji 750 osób w wieku 26-31 lat. Używając kryterium 90. percentyla określił on górny zakres CSP dla kobiet na 120 mmHg. Przyjmując tę wartość, należy stwierdzić, że przeciętne wartości CSP w grupie badanej i kontrolnej (mediany odpowiednio 85,5 i 90,0 mmHg) były zdecydowanie poniżej tej granicy. Co więcej, żadna z uczestniczek badania nie miała wartości CSP powyżej 120 mmHg (maksimum w grupie FHA 118,9 mmHg, a w grupie kontrolnej 116,2 mmHg) [115].

Oceny podatności naczyń w młodej populacji ( $n=109$ , 10-17 rok życia) dokonali też Riley i wsp. [116] określając rozszerzalność tętnicy szyjnej metodą ultrasonograficzną. Nawet w tak młodej populacji wykazano zależność między elastycznością ściany naczyniowej, a występowaniem nadciśnienia tętniczego. Co więcej, badacze wykazali, że spadek elastyczności u dzieci korelował dodatnio z wywiadem rodzinnym dotyczącym występowania incydentów sercowo-naczyniowych u rodziców.

Biorąc pod uwagę powyżej przytoczone dane z piśmiennictwa można przypuszczać, że oznaczenie centralnych parametrów hemodynamicznych w młodej populacji może służyć do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego. W kontekście uzyskanych wyników, czyli stosunkowo niskich wartości centralnych parametrów sztywności naczyń, trzeba zachować dużą ostrożność w interpretacji tych danych. W większości analizowanych populacji bowiem, bezwzględne wartości wskaźników hemodynamicznych były wyższe niż wyniki uzyskane u pacjentek z FHA.

## 6.3 PARAMETRY HORMONALNE, A PARAMETRY HEMODYNAMICZNE

### 6.3.1 Stężenia estradiolu

Wyniki badań hormonalnych wykazały liczne i głębokie zaburzenia w układzie wydzielania wewnętrznego u kobiet z FHA. Stężenia gonadotropin były niższe dla pacjentek z podwzgórzycą w stosunku do grupy kontrolnej, choć dla FSH nie osiągnięto istotności statystycznej (wartość  $p=0,06$  wskazuje jednak na tendencję statystyczną). Odnotowano także bardzo niskie stężenia estradiolu, co wraz z wynikami gonadotropin interpretować można jako hipogonadyzm hipogonadotropowy. Taki charakter zaburzeń jest typowy dla FHA, co wynika z obniżonej aktywności gonadoliberynowej w tej grupie pacjentek [2,3,4,11,12].

Jak zaznaczono powyżej, w licznych badaniach stwierdzono zwiększone ryzyko zapadalności na choroby układu sercowo-naczyniowego w zależności od statusu hormonalnego kobiety [2, 79, 80, 103, 117]. Zależność tę potwierdzono zarówno u kobiet młodych, jak i starszych oraz u tych, u których hipostrogenizm był krótkotrwały, jak i przetrwały. Liczba danych analizujących u młodych kobiet parametry hemodynamiczne i falę tętna w zależności od stężeń estradiolu jest jednak bardzo mała.

Przeprowadzono kilka doświadczeń nad wartościami parametrów sztywności naczyń ośrodkowych w zależności od fazy cyklu. Robb i wsp. [118] wykazali na grupie 10 zdrowych kobiet, znamienne niższe wartości CAI w fazie lutealnej, kiedy spadają stężenia estradiolu, a rosną progesteronu. Wynik ten jest zatem pośrednio zgodny z wynikami własnymi, gdyż u kobiet z FHA i hipostrogenią uzyskano statystyczną tendencję do niższych wartości CAI. Inna grupa badaczy, oceniając analogiczne parametry fali tętna na grupie 23 kobiet, uzyskała inne wyniki. Ciśnienie oznaczone na tętnicy promieniowej i w aorcie oraz CAI osiągały najniższe wartości w późnej fazie folikularnej, kiedy stężenia estradiolu osiągają maksimum w cyklu. Podobne wartości utrzymywały się we wczesnej fazie lutealnej [119]. Niektóre z badań nad zmianami parametrów fali tętna nie wykazały istotnych różnic w zależności od fazy cyklu [120, 121]. Interpretując wyniki powyższych badań trzeba wziąć pod uwagę niską liczbę uczestniczek w każdym przypadku.

Niniejsze badanie, oceniające parametry obwodowej i centralnej fali tętna u kobiet z FHA, było, według wiedzy autora, pierwszym takim badaniem w tej grupie chorych. W dostępnych bazach literaturowych brak jest podobnych doniesień pozwalających odnieść wyniki własne do innych autorów. Z tego względu wyniki te można dyskutować tylko w oparciu o nieliczne, podobne prace dotyczące kobiet z hipostrogenizmem na innym tle.

Otsberg i wsp. [122], podobnie jak w prezentowanym badaniu, zastosowali aparat Sphygmocor do analizy parametrów fali tętna na grupie 96 kobiet z zespołem Turnera, 11 kobiet z pierwotnym

brakiem miesiączki oraz 25 zdrowych kobiet z grupy kontrolnej. Analiza nie wykazała istotnych różnic w wartości CAI między grupami z pierwotnym brakiem miesiączki, a kontrolną. Uzyskano natomiast wyższe wartości tego wskaźnika u pacjentek z zespołem Turnera. Korekta wyników względem BMI pacjentek wykazała jednak, że CAI było równe we wszystkich grupach [122]. Badanie to wykazuje znaczne różnice pod względem kryteriów włączenia, w stosunku do niniejszej pracy. Średni wiek pacjentek był wyższy dla każdej z grup (powyżej 30 lat), oraz hipiestrogenizm miał charakter pierwotny i przetrwały, w przeciwieństwie do stosunkowo krótkotrwałego hipiestrogenizmu u kobiet z FHA. Co więcej, w fenotypie zespołu Turnera mieszczą się wady serca, zwiększona częstość występowania tętniaków aorty oraz zespół metaboliczny. Kolejne ograniczenie stanowi fakt, że w cytowanym badaniu nie analizowano zależności między parametrami hemodynamicznymi, a stężeniami hormonów. W innym doświadczeniu nad pacjentkami z zespołem Turnera oceniano wpływ hormonalnej terapii zastępczej na czynność naczyń. Autorzy zaobserwowali zmniejszenie grubości kompleksu intima-media u pacjentek z hipogonadyzmem przyjmujących estradiol doustnie przez 12 tygodni. Nie wykazali jednak związku między PWV i CAI, a przyjmowaniem estrogenów [123].

Istotnych wniosków na temat związku centralnych parametrów hemodynamicznych ze stężeniami estrogenów dostarczają badania nad kobietami po menopauzie. Creatsa i wsp. [124] nie wykazali związku między stężeniami estradiolu, a wartościami CAI w grupie 120 kobiet po menopauzie. Grupa naukowców pod przewodnictwem Tentolouris [125] badała wpływ hormonalnej terapii zastępczej (HTZ) prowadzonej przez 1 rok w grupie 65 kobiet po menopauzie. W badaniu tym nie wykazano różnic w wartościach CPP, CAP i CAI przed i po zastosowaniu terapii ciągłej z zastosowaniem koniugowanych końskich estrogenów (CEE) z octanem medroksyprogesteronu (MPA). Wyniki te można uznać za pośrednio zgodne, z wynikami uzyskanymi w prezentowanym badaniu, gdyż świadczą o braku związku między stężeniami estrogenów, a CAI. Ciekawych wniosków dostarczają wyniki uzyskane przez inną grupę badaczy, która sprawdzała parametry fali tętna po krótkim (1 dzień) i długim (4 miesiące) leczeniu CEE kobiet postmenopauzalnych z cukrzycą typu 2 [126]. Mierzony metodą aplanacyjną CAI spadał tylko po zastosowaniu CEE przez okres 4 miesięcy. Wynik ten wskazuje na istotny wpływ różnego czasu ekspozycji na egzogenne estrogeny na parametry centralnej fali tętna.

W badaniu własnym wykazano obniżone wartości centralnych parametrów wzmocnienia fali tętna u kobiet z FHA, lecz nie dowiedziono istotnej korelacji między stężeniami estradiolu w grupie badanej i kontrolnej, a PPP, CPP, PAI, CAI. W kontekście wyżej przedstawionych danych z piśmiennictwa obniżone wartości CAI u pacjentek z FHA wydają się być zaskakujące. W niektórych przytoczonych badaniach wykazano, że stany przebiegające z obniżeniem stężeń estradiolu albo wpływają negatywnie na parametry fali tętna albo nie wykazują żadnego wpływu. Z drugiej strony, w większości danych z piśmiennictwa analizowano starsze grupy kobiet, z dodatkowymi czynnikami

ryzyka sercowo-naczyniowego, co może mieć istotny wpływ na różnice w uzyskanych wynikach. Brak wyraźnego związku między terapią estrogenową w wynikach Tentolouris [125,126], a CAI jest pośrednio zgodny z wynikami własnymi, gdzie nie potwierdzono korelacji między estradiolem, a obwodowymi lub ośrodkowymi wskaźnikami wzmocnienia. Wyniki te sugerują, że u kobiet z FHA istnieją inne determinanty obniżonych wartości wskaźników sztywności naczyń niż hipoeestrogenemia.

### 6.3.2 Stężenie androgenów

W badaniu stwierdzono istotnie niższe wartości stężeń androgenów: testosteronu i DHEAS, co odzwierciedla zmniejszoną biosyntezę jajnikową, nadnerczową i obwodową tych hormonów. Względna hipoandrogenemia (wartości stężeń w większości przypadków mieszczą się w dolnym zakresie normy) jest także cechą konstytutywną dla FHA i była wielokrotnie opisywana przez innych badaczy [2,3,4,11,12]. Analiza korelacyjna nie wykazała istotnych zależności między obwodowymi parametrami sztywności naczyń, a stężeniami testosteronu lub DHEAS. Co ciekawe stwierdzono jednak graniczne wartości  $p$  dla korelacji między stężeniem testosteronu, a wartościami CAI w grupie badanej ( $p=0,06$ ), co przemawia za statystyczną tendencją do występowania związku między tymi wartościami. Związek ma charakter ujemny, co oznacza, że rosnące stężenia testosteronu wiążą się z mniejszymi wartościami CAI.

Dane literaturowe dotyczące związku między stężeniami androgenów, a sztywnością naczyń u kobiet są bardzo ograniczone i pochodzą z bardzo zróżnicowanych populacji. W cytowanym powyżej badaniu u kobiet po menopauzie, autorzy zaobserwowali pozytywną korelację między stężeniami testosteronu oraz indeksem wolnych androgenów, a wartością wskaźnika wzmocnienia [124]. Przeciwna zależność charakteryzowała związek między stężeniem DHEAS, a CAI [124]. Związek między wyższymi stężeniami testosteronu, a wykładnikami zwiększonej sztywności naczyniowej u kobiet po menopauzie był też potwierdzony przez innych autorów [127]. Istnieją też doniesienia świadczące, że androgeny mogą u kobiet po menopauzie korzystnie wpływać na właściwości ściany naczyniowej. Zależność ujemną między grubością kompleksu intima-media wykazano dla androstendionu i testosteronu [128, 129, 130]. Specyficzną grupą kobiet poddanych intensywnej androgenoterapii (w większości testosteronem) są transseksualiści. W obszernym przeglądzie piśmiennictwa (łącznie liczba uczestników 712) nie wykazano istotnego wpływu egzogenego testosteronu na wykładniki sztywności naczyniowej [131]. Badania nad wpływem androgenów na ścianę naczyniową u mężczyzn też przynoszą sprzeczne wyniki, choć większość autorów wykazała, że endogenne i egzogenne androgeny mogą też zmniejszać sztywność naczyniową u młodych mężczyzn [132, 133].

W świetle powyższych sprzecznych doniesień literaturowych trudno interpretować wyniki uzyskane w niniejszym badaniu. Jest to tym trudniejsze, że brak badań przeprowadzonych na podobnej grupie kobiet. Uwzględniając jednak jedyne dostępne wyniki badań na grupie stosunkowo młodych

kobiet poddawanych hormonoterapii ze względu na transseksualizm [134] oraz słabą statyczną moc zależności między testosteronem, a CAI w niniejszym badaniu, prawdopodobne jest że androgeny nie są istotnymi modyfikatorami sztywności naczyniowej w FHA. Za tezę tą przemawiają też bardzo niskie bezwzględne wartości testosteronu i DHEAS zmierzone w tej grupie chorych.

### 6.3.3 Stężenia pozostałych hormonów

U pacjentek z FHA stwierdzono obniżoną aktywność laktotropową (istotnie obniżone wartości PRL) oraz tyreotropową (niższe stężenia TSH, przy jednocześnie obniżonych stężeniach fT4). Wyniki te uzupełniają spektrum zaburzeń endokrynnych występujących u pacjentek z FHA [2,3,4,11,12]. Warto zaznaczyć, że mimo wykazanych istotnie niższych średnich wartości TSH i fT4 u kobiet z FHA, wartości te wciąż pozostawały w normie. Nie wykazano jednak by w grupie badanej lub kontrolnej stężenia PRL, TSH lub tyroksyny pozostawały w związku z PPP, PAI, CAI lub CPP.

Czynność tarczycy jest jednym ze znanych czynników wpływających na sztywność naczyniową. Dagne i wsp. [135] stwierdzili wyraźną zależność między parametrami fali tętna mierzonej metodą tonometrii aplanacyjnej, a stężeniami TSH w grupie 65 pacjentów z niedoczynnością tarczycy. TSH pozostawało w pozytywnej korelacji z CSP, CPP i CAP. Zależności te pozostawały istotne nawet w podgrupie pacjentów z subkliniczną niedoczynnością tarczycy (wartości TSH w normie przy obniżonej fT4) [135]. Negatywny wpływ niedoboru tyroksyny na sztywność naczyń oraz pozytywny wpływ suplementacji tym hormonem na te parametry został też potwierdzony przez innych badaczy [136, 137, 138]. Ważnym czynnikiem wpływającym na zwiększoną sztywność naczyniową u pacjentów z niedoczynnością tarczycy, wydaje się być autoimmunologiczny charakter tej choroby, gdyż rozpoznanie choroby Hashimoto, niezależnie od stężeń TSH wpływa negatywnie na ścianę naczyniową [139]. W badaniu własnym mimo niższych wartości TSH i tyroksyny nie wykazano niedoczynności tarczycy u pacjentek z FHA. Niskie wartości TSH wykluczają także autoimmunologiczną pierwotną niedoczynność tarczycy w tej grupie. W tym kontekście brak wyraźnej korelacji między wykładnikami czynności tarczycy, a analizowanymi parametrami fali tętna wydaje się być zrozumiałą.

U kobiet po menopauzie PRL wydaje się być istotnym modulatorem układu sercowo-naczyniowego. W nielicznych badaniach wykazano, że stężenia PRL korelują dodatnio z obwodowym i centralnym ciśnieniem skurczowym oraz rozkurczowym [140,141]. Wpływają też na wartość PWV, będącej wykładnikiem sztywności naczyń. Autorzy jednego z badań zwracają jednak uwagę, że istotną zależność obserwowano dopiero przy wyższych (>8 ng/ml) stężeniach PRL w surowicy [140]. W wynikach własnych stężenia PRL były natomiast stosunkowo niskie. W grupie FHA mediana stężeń wynosiła 4,66 ng/ml, co potencjalnie mogło wpłynąć na brak statystycznej zależności między badanymi parametrami fali tętna, a PRL.

#### 6.4 PARAMETRY ANTROPOMETRYCZNE I METABOLICZNE, A WSKAŹNIKI HEMODYNAMICZNE

W badaniu nie analizowano szczegółowo sposobu odżywiania kobiet włączonych do badania. Wykazano jednak duży odsetek osób z obniżonym BMI w obu włączonych grupach oraz niską zawartość tkanki tłuszczowej, co było konsekwencją włączenia do badania pacjentek z FHA po odchudzeniu. Nie wykazano, by BMI korelowało istotnie z PPP, PAI, CPP, CAI lub CAP, natomiast zależność taką stwierdzono dla bezwzględnej zawartości tkanki tłuszczowej, a PPP w grupie FHA. W grupie kontrolnej zależność taka została potwierdzona dla obwodowego i centralnego ciśnienia tętna.

Bardzo dobrze udokumentowany jest fakt, że sposób odżywiania wpływa istotnie na sztywność naczyń. Powszechnie jest także znana zależność między występowaniem otyłości, a zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. W tym kontekście badano także wpływ diety redukcyjnej na sztywność naczyń. W jednym z badań wykazano istotną dodatnią zależność między zmianami masy ciała, a sztywnością naczyń mierzoną jako aortalna PWV, w grupie osób (n=152) w wieku 20-40 lat obserwowanych przez 6 lat [142]. Wykazano, że prędkość aortalnej fali tętna zależy ściśle od masy ciała, obwodu pasa, BMI oraz rocznego wzrostu masy ciała. Inna grupa stwierdziła wyraźną zależność między parametrami sztywności naczyń (PWV, CAI, CPP), a BMI, masą tkanki tłuszczowej i otyłością brzuszną [143]. Do ciekawych wniosków doszli Cooper i wsp. [144] w jednym z nowszych randomizowanych badań klinicznych nad modyfikacją stylu życia u młodych osób – SAVE (z ang. *Slow Adverse Vascular Effects* – Spowolnienie Niekorzystnych Efektów Naczyniowych). Do badania włączono 344 osoby (77% kobiet) w wieku 20-40 lat i poddano rocznej obserwacji podczas stosowania leczenia dietetycznego oraz specjalnego programu ćwiczeń fizycznych. Wykazano, że zmniejszenie masy ciała było najważniejszym czynnikiem wpływającym na zmniejszenie sztywności naczyniowej (mierzonej jako PWV), silniejszym niż zmiany w profilu lipidowym, wydalaniu sodu lub zmiany stężenia aldosteronu. Przedstawione wyniki z literatury można uznać za częściowo zgodne z wynikami badania własnego. Do badania włączono pacjentki z FHA na tle diety redukcyjnej, co mogło mieć kluczowe znaczenie dla zaobserwowanej tendencji do niższych wartości CAI oraz zmniejszonego CAP w stosunku do grupy kontrolnej. Dane z badania SAVE [144] wykazały, że to właśnie zmniejszenie masy ciała jest bardzo silnym korelatem centralnych parametrów sztywności naczyń.

Mechanizmy, które determinują tak silny związek między sztywnością naczyniową, a dietą są częściowo poznane, choć dane literaturowe pochodzą w dużej mierze z badań nad zwierzętami. Wykazano, że ograniczenie kaloryczne zmniejsza u zwierząt sztywność naczyń mierzoną bezpośrednio jako zmniejszenie PWV oraz zwiększenie rozszerzalności aorty [145]. W badaniach histopatologicznych

u zwierząt poddanych diecie zaobserwowano zmniejszone gromadzenie kolagenu, zwiększoną ilość włókien elastynowych oraz mniejszą dezorganizację w mięśniówce naczyń [146]. Grupa Fornieri i wsp. [146] wykazała też zmniejszoną akumulację proteoglikanów (dekoryny), które nasilają procesy włóknienia i wapnienia w sposób zależny od TGF- $\beta$ . Wśród mechanizmów zwiększających podatność naczyń w odpowiedzi na restrykcję kaloryczną wymienia się także zmniejszenie stresu oksydacyjnego, wykładników uogólnionego stanu zapalnego oraz zwiększenie dostępności tlenu azotu [147]. Wszystkie te mechanizmy antagonizują wpływ hipolestrogenemii na układ sercowo-naczyniowy (porównaj 1.4 wyżej). Zmniejszenie stresu oksydacyjnego przy diecie redukcyjnej wiąże się ze zmniejszeniem stężeń produktów peroksydacji lipidów (m.in. 4-hydroksynonenalu) w ścianie aorty oraz spadkiem syntezy TGF- $\beta$  [148]. W wyniku zastosowania diety stwierdzono też zwiększoną aktywność NOS w ścianie naczyń [149]. Badania nad myszami pozwoliły stwierdzić, że stężenia leptyny mogą wpływać na zmianę sztywności naczyń centralnych bardziej niż samo zmniejszenie masy ciała [150]. Obserwacja ta wydaje się o tyle istotna, że u pacjentek z FHA na tle odchudzania stwierdza się znamienne hipoleptynemię [4].

Obok różnic dotyczących BMI i zawartości tkanki tłuszczowej, między grupą badaną, a kontrolną występowały znaczne różnice w profilu lipidowym. Pacjentki z FHA miały wyższe średnie wartości TCH, LDL oraz TG, a połowa z nich miała wartości LDL powyżej normy. Tak duże zaburzenia w gospodarce lipidowej nie są zjawiskiem charakterystycznym dla triady atletycznej i wynikają prawdopodobnie z niskiej aktywności fizycznej połączonej z intensywną dietą redukcyjną [75, 151]. Podobne zaburzenia lipidowe, jak obserwowane w grupie FHA, obserwuje się w jadłowstręciu psychicznym [152]. Co ciekawe, analiza korelacji nie wykazała istotnych zależności między wskaźnikiem wzmocnienia, a żadną z badanych frakcji lipidowych. Jedynie stężenia TG w niewielkim stopniu korelowały ujemnie z obwodowym i centralnym ciśnieniem tętna ( $r=-0,38$  dla PPP i  $r=-0,37$  dla CPP,  $p<0,05$ ). W dostępnej literaturze analizowano wpływ hiperlipidemii na wykładniki sztywności naczyń, lecz głównie w grupach pacjentów z dodatkowymi czynnikami ryzyka chorób sercowo naczyniowych. W grupie pacjentek z nadwagą lub otyłością wykazano dodatnią zależność między CAI, a stężeniem TG. Inne frakcje lipidowe nie korelowały istotnie z tym wskaźnikiem [153]. W badaniu dzieci z hipercholesterolemią również zaobserwowano wzrost sztywności naczyniowej wynikający z zaburzeń lipidowych [154], co potwierdzono także w badaniach na osobach dorosłych [155]. Uogólniając można więc stwierdzić, że hiperlipidemia wiąże się z pogorszeniem parametrów elastycznych ściany naczyniowej. Uzyskana ujemna korelacja między PPP i CPP w FHA była jednak statystycznie słaba, co może sugerować, że w tej grupie chorych nie jest to istotny parametr wpływający na sztywność naczyń.

Obok wskaźników antropometrycznych do innych ważnych cech badanych wykazujących korelacje z niektórymi z badanych cech fali tętna należały stężenia insuliny, glukozy i wartości HOMA.

U pacjentek z FHA wykazano istotne zależności między wartościami PPP i CPP dla stężenia glukozy, insuliny i wskaźnika HOMA. Dodatkowo wartości HOMA korelowały dodatnio z PAI. Zależności te nie były potwierdzone w żadnym z przypadków dla grupy kontrolnej.

Wpływ insuliny i gospodarki glukozowej na sztywność naczyń jest dość dobrze poznany. Badania na zdrowych, młodych ochotnikach wykazały, że insulina powoduje szybkie (w ciągu godziny od rozpoczęcia podawania) i istotne zmniejszenie wartości CAI oraz CPP. Oddziałuje podobnie na krążenie obwodowe, zwiększając podatność naczyń (spadek PAI oraz PPP) ale efekt ten występuje później, przy infuzji insuliny przez 2 godziny [156, 157]. U osób z hiperinsulinemią w przebiegu cukrzycy typu 2 lub otyłości efekt na wartości CAI jest utrzymany, ale występuje dopiero po przedłużonej stymulacji egzogenną insuliną [158]. U pacjentów z cukrzycą typu 1, w warunkach przetrwałej hipoinsulinemii i hiperglikemii, stwierdza się natomiast znamienne podwyższone wskaźniki sztywności naczyń oraz słabą odpowiedź w postaci wzrostu podatności naczyń po podaniu insuliny [159, 160]. Sama hiperglikemia, indukowana podaniem dożylnym glukozy i nie kompensowana wyrzutem insuliny powoduje u osób młodych wzrost sztywności naczyń. Wzrost ten dotyczy w większym stopniu krążenia obwodowego niż ośrodkowego [161]. W niedawno opublikowanej pracy, Fang i wsp. [162] wykazali, że u osób młodych z prawidłową tolerancją glukozy stężenie insuliny po doustnym teście obciążenia glukozy jest najlepszym korelatem PWV. Po wykluczeniu innych potencjalnych czynników okazało się, że stężenia insuliny na czczo, stężenie glukozy na czczo lub 2 godziny po obciążeniu glukozą nie korelują ze sztywnością naczyń. Innymi słowy insulinooporność wydaje się być dominującym zjawiskiem w regulacji podatności ściany naczyń u młodych osób [162]. W przedstawionych wynikach również wykazano, że stężenia insuliny oraz stopień insulinooporności modulują wykładniki obwodowej i centralnej sztywności naczyń. W grupie FHA rosnące wartości HOMA przekładały się na rosnące obwodowe i ośrodkowe ciśnienie tętna. Z drugiej strony taką samą korelację (dodatnią) stwierdzono dla insuliny, co jest zaskakujące w kontekście wyżej przytoczonego piśmiennictwa. Homeostaza glukozowa u pacjentek z FHA bardzo się różni w stosunku do grup, na których badano wpływ insuliny na sztywność naczyniową. W grupie badanej wykazano stosunkowo niskie wartości średnie glikemii przy obniżonych stężeniach insuliny. Współczynnik HOMA również był niski. Razem te wyniki świadczą o zwiększonej insulinooporności w tej grupie, w stosunku do grupy kontrolnej. Zjawisko to jest najprawdopodobniej związane z epizodami odchudzania w tej grupie chorych. Pośrednio, potwierdzają to dane z piśmiennictwa dotyczące jadłowstrętu psychicznego, choć w tej grupie średnia wartość HOMA-IR jest znacznie niższa ( $0,36 \pm 0,1$  w badaniu Dostalova i wsp. [163] vs  $1,2 \pm 1,0$  w wynikach własnych). W sytuacji zwiększonej insulinooporności reakcja ściany naczyń na insulinę może być odmienna niż w grupie chorych z cukrzycą. Biorąc pod uwagę cytowane wyniki Fanga i wsp. [162], które wykazały że insulinooporność jest lepszym determinantem sztywności naczyniowej niż same stężenia



insuliny, można wysunąć przypuszczenie, że podobnie w grupie FHA właściwości ściany naczyniowej zależą w dużej mierze od HOMA-IR.

## 6.5 PODSUMOWANIE

U młodych kobiet z FHA nie stwierdza się wykładników zmniejszonej podatności naczyń obwodowych lub centralnych. Jest to wniosek przeciwny do wyników badań hemodynamicznych wykonywanych na populacji kobiet w wieku perimenopauzalnym o podwzgórzowej etiologii hipoestrogenizmu [79, 80].

Biorąc pod uwagę powyższe rozważania, można wysunąć przypuszczenie, że zmniejszone CPP, CAP, oraz tendencja do niższych wartości CAI w stosunku do grupy kontrolnej nie są bezpośrednio powiązane z hipoestrogenizmem w tej grupie kobiet. Choć dane porównawcze w piśmiennictwie dotyczące tej lub podobnej grupy chorych są bardzo skąpe, to na podstawie badań innych grup pacjentów, można przypuszczać, że zmniejszone parametry sztywności naczyń ośrodkowych w grupie FHA mają głównie związek z niższą zawartością tkanki tłuszczowej i zwiększoną insulinowrażliwością. Wiele ze znanych czynników, które wpływają, najczęściej negatywnie, na parametry sztywności naczyniowej: obniżone stężenie androgenów, obniżone stężenie hormonów tarczycy, obniżone stężenie insuliny oraz dyslipidemia nie wywierają istotnego wpływu na parametry hemodynamiczne u pacjentek z FHA. Mimo, że istnieją pewne przesłanki z badań populacyjnych, świadczące o roli prognostycznej badanych parametrów fali tętna u osób młodych dla ryzyka sercowo-naczyniowego, trudno jednoznacznie stwierdzić, że otrzymane wyniki przemawiają za zmniejszonym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych u kobiet z FHA.

## 6.6 OGRANICZENIA BADANIA

Podstawowym ograniczeniem niniejszego badania jest mała liczność grupy pacjentek z FHA. Czynnikiem ten zmniejsza wiarygodność analizy porównawczej, a przede wszystkim korelacyjnej. Z drugiej strony jest to choroba stosunkowo rzadka, i w piśmiennictwie światowym rzadko spotyka się wyniki badań przeprowadzonych na większych grupach pacjentek. Ze względu na retrospektywny charakter i trudności z obiektywizacją wywiadu lekarskiego do analizy nie włączono parametru opisującego tempo utraty masy ciała przed wykonaniem badań. W kontekście uzyskanych wyników, wskazujących na dużą rolę czynnika deficytu energetycznego dla badanych parametrów hemodynamicznych, byłby to parametr pożądany. Wykonane badanie warto by było także zweryfikować w kolejnych latach, by ocenić rolę prognostyczną wykonanych badań fali tętna. O ile istnieją dane potwierdzające związek zwiększonej sztywności naczyń u młodych pacjentów ze zwiększoną zapadalnością na choroby układu krążenia, o tyle brak jest doświadczeń, które wskazywałyby, że niższa sztywność przekłada się w perspektywie na zmniejszenie tej chorobowości.

## 7 WNIOSKI

---

1. U kobiet z FHA stwierdza się niższe średnie wartości ośrodkowych wskaźników sztywności naczyniowej: CPP i CAP, w stosunku do grupy zdrowych kobiet w tym samym wieku.
2. Niektóre z badanych wskaźników sztywności naczyniowej korelują z wybranymi parametrami antropometrycznymi (zawartość tkanki tłuszczowej) oraz metabolicznymi (stężenie insuliny, glukozy, wartość HOMA-IR) w grupie pacjentek z FHA. Może to wskazywać na dużą rolę niedoboru energetycznego jako czynnika zmniejszającego sztywność naczyń w FHA.
3. Hipoestrogenizm występujący u młodych kobiet z FHA nie wykazuje związku z parametrami sztywności naczyń.

## 8 STRESZCZENIE

---

**Wstęp.** Podwzgórzowy czynnościowy brak miesiączki (FHA) jest zaburzeniem układu wydzielania wewnętrznego, które charakteryzuje nieprawidłowa czynność podwzgórza prowadząca do zahamowania osi podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalnej i wtórnego braku miesiączki. Istotą zaburzeń neurohormonalnych jest nieprawidłowe lub brak wydzielania pulsacyjnego gonadoliberyny (GnRH), a czynnikiem wywołującym jest najczęściej wystąpienie bodźców stresowych (odchudzania, nadmiernego wysiłku fizycznego, stresu psychicznego). W FHA na tle odchudzania występuje szereg zaburzeń hormonalnych, przede wszystkim hipogonadyzm hipogonadotropowy, oraz metabolicznych, które mogą wpływać na czynność układu sercowo-naczyniowego. Czynność układu sercowo-naczyniowego nie była dotąd szczegółowo badana w FHA, ale dane literaturowe wskazują, że głęboki hipoestrogenizm oraz zaburzenia metaboliczne mogą zwiększać ryzyko chorób tego układu. Jednym z narzędzi do oceny czynności układu sercowo-naczyniowego jest analiza fali tętna. Za pomocą tonometrii aplanacyjnej można zmierzyć parametry sztywności naczyń obwodowych i na ich podstawie obliczyć analogiczne parametry sztywności aorty. Wskaźniki takie jak obwodowe i ośrodkowe ciśnienie tętna (PPP i CPP) oraz ośrodkowe wskaźnik i ciśnienie wzmocnienia (CAI i CAP), są jednymi z ważniejszych wykładników sztywności naczyń, których wartości korelują z częstością występowania chorób układu sercowo-naczyniowego.

**Materiał.** Do badania włączono 36 kobiet z FHA na tle odchudzania, u których nie występowały inne choroby mogące potencjalnie istotnie wpływać na czynność układu sercowo-naczyniowego. Grupę kontrolną stanowiło 14 zdrowych, regularnie miesiączkujących kobiet dobranych pod względem wieku.

**Metody** U każdej kobiety włączonej do badania wykonano badanie podmiotowe, przedmiotowe, badanie ultrasonograficzne narządu rodnego, oznaczono masę ciała i wzrost oraz obliczono wskaźnik masy ciała (BMI). Wykonano też ocenę składu ciała metodą bioimpedancyjną urządzeniem MC 180 MA firmy Tanita. Oznaczenia hormonalne w surowicy (folikulotropina [FSH]; lutropina [LH]; estradiol [E2], testosteron, siarczan dehydroepiandrosteronu [DHEAS], prolaktyna [PRL], tyreotropina [TSH], wolna tyreoksyna [fT4], insulina) oraz biochemiczne (stężenie glukozy na czczo w surowicy oraz stężenia cholesterolu całkowitego [TCh], lipoproteiny o niskiej gęstości [LDL], lipoproteiny o wysokiej gęstości [HDL], triglicerydów [TG] w osoczu) wykonano w urządzeniu Cobas firmy Roche. W grupie kontrolnej oznaczenia wykonano w 10-12. dniu cyklu. U każdej pacjentki obliczono współczynnik insulinooporności w modelu homeostazowym (HOMA). Badania układu krążenia przeprowadzone zostały w Katedrze i Klinice Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Do rejestracji fali tętna na tętnicy promieniowej

wykorzystano pizoelektryczny tonometr Colin BMP 7000, Colin Japonia, a centralne parametry fali tętna wyliczono z pomocą funkcji transferowych urządzenia Sphygmocor MX (AtCor Medical, Australia). Badanie zostało pozytywnie zaopiniowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała 305/13 z dn. 4 kwietnia 2013 r.).

**Wyniki.** U pacjentek z FHA stwierdzono niższą średnią masę ciała, wartości BMI oraz zawartość tkanki tłuszczowej w stosunku do grupy kontrolnej. U kobiet z FHA stwierdzono znaczne zaburzenia hormonalne oraz metaboliczne w porównaniu do grupy kontrolnej. Analiza statystyczna wykazała, że w grupie badanej niższe są średnie stężenia LH, estradiolu, testosteronu, DHEAS, PRL, TSH, fT4, insuliny oraz wartość HOMA. Wyższe natomiast były stężenia TCh, LDL i TG. Analiza parametrów hemodynamicznych wykazała, że wartości ciśnień obwodowych (skurczowego, rozkurczowego, średniego oraz tętna) były równe w obu grupach. Ośrodkowe ciśnienie tętna było natomiast istotnie niższe w grupie badanej. Podobnie CAP miało niższe wartości u pacjentek z FHA. Bezwzględna różnica dla ciśnienia wzmocnienia wynosiła około 2 mmHg ( $3,0 \pm 3,3$  mmHg w grupie FHA vs  $5,5 \pm 3,4$  mmHg dla grupy kontrolnej,  $p=0,03$ ). Ocena korelacji między wybranymi parametrami wykazała, że obwodowe i centralne wskaźniki sztywności naczyń nie korelują ze stężeniami estradiolu. Wykazano natomiast zależność między zmierzoną zawartością tkanki tłuszczowej, a PAI w grupie badanej oraz wartością HOMA, a PPP, PAI i CPP w FHA. Stężenia insuliny korelowały istotnie z wartościami ciśnień tętna CPP i PPP w grupie badanej.

**Wnioski.** U kobiet z FHA stwierdza się niższe średnie wartości ośrodkowych wskaźników sztywności naczyniowej: CPP i CAP, w stosunku do grupy zdrowych kobiet w tym samym wieku. Dane literaturowe oraz wyniki własne wskazują, że niektóre parametry hemodynamiczne korelują z wskaźnikami antropometrycznymi oraz metabolicznymi (insulina, glukoza, HOMA), co może wskazywać na dużą rolę odchudzania jako czynnika zmniejszającego sztywność naczyń w FHA. Kwestia ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w grupie pacjentek z FHA wymaga dalszych badań.

#### **SŁOWA KLUCZOWE:**

czynnościowy podwzgórzowy brak miesiączki, hipoenestrogenizm, sztywność naczyń, wskaźnik wzmocnienia, ciśnienie tętna, odchudzanie.

## 9 ABSTRACT

---

### **Functional hypothalamic amenorrhea – arterial stiffness and central hemodynamic parameters.**

**Introduction.** Functional hypothalamic amenorrhea (FHA) is a disorder of endocrine system, which is characterized by impaired function of hypothalamus, which leads to cessation of hypothalamic-pituitary-ovarian axis function and secondary amenorrhea. The main neurohormonal disturbance is improper or lack of gonadotropin releasing hormone (GnRH) pulsatile secretion. The triggering factor is usually presence of stressors, such as restrictive diet, physical activity or psychogenic stress. Several hormonal disturbances, especially hypogonadotrophic hypogonadism and metabolic abnormalities are typical for FHA related to diet, which can interfere with function of cardio-vascular system. The function of cardio-vascular system was not studied in details in FHA, but some literature data indicates that profound hypoestrogenism and metabolic disturbances may increase the risk of vascular disease. The pulse wave analysis is one of available tools for assessment of cardio-vascular function. The peripheral arterial wall stiffness may be measured with use of applanation tonometry and using it, it is possible to calculate the central arterial stiffness indices. Such indices as peripheral and central pulse pressures (PPP and CPP) and central augmentation index and pressure (CAI and CAP) are considered among others as most important surrogates of arterial stiffness, and they are known to be related to cardio-vascular disease incidence.

**Material.** 36 women diagnosed with FHA related to diet were included to the study. Women with other diseases potentially influencing cardiovascular health were excluded. Control group consisted of 14 healthy euovulatory, aged-matched women.

**Methods.** In each woman detailed history was taken and they underwent physical and ultrasound examination. Body mass and height was measured and body mass index (BMI) was calculated. The body composition analysis was made using MC 180 MA Tanita system. The hormonal measurements in serum (follicle stimulating hormone [FSH]; luteinizing hormone [LH]; estradiol [E2], testosterone, dehydroepiandrosteron sulphate [DHEAS], prolactin [PRL], thyroid stimulating hormone [TSH], free thyroxin [fT4], insulin) and biochemical analyses (serum fasting glucose concentration, plasma total cholesterol [TCh], low-density lipoprotein [LDL], high-density cholesterol [HDL] and triglycerides [TG]) were made using Cobas system by Roche. In control group the measurements were done in 10<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> day of the cycle. The insulin resistance was checked with homeostasis model (HOMA). The cardiovascular system examinations were made in Chair and Department of Cardiological Intensive Care and Internal Diseases of Poznan University of Medical Sciences. The radial artery pulse wave was registered with pizelectric tonometr (Colin BMO 7000, Colin Japan) and central pulse wave analysis was done with transfer functions of Sphygmocor system (AtCor Medical, Australia). The study was

approved by Poznan University of Medical Sciences Bioethical Committee (decision 305/13 on April 4th 2013).

**Results.** In FHA patients the decreased mean body weight, BMI and fat mass were found in comparison to controls. In FHA women severe hormonal and metabolic disturbances were present. The statistical analysis revealed lowered mean concentrations of LH, estradiol, testosterone, DHEAS, PRL, TSH, fT4, insulin and HOMA value in studied group. This group was also characterized by increased mean levels of TCh, LDL and TG. The hemodynamic measurements analysis revealed that peripheral pressures (systolic, diastolic, mean and pulse) were the same in both groups. Central pulse pressure was statistically lower in FHA patients. Similarly CAP was lower in FHA. The direct augmentation pressures were about 2 mmHg lower mmHg ( $3,0\pm 3,3$  mmHg in FHA vs  $5,5\pm 3,4$  mmHg in controls,  $p=0,03$ ). In correlation analysis between chosen parameters, we failed to prove correlation between peripheral or central stiffness indices and estradiol concentrations. However, the correlation between fat mass and PAI in studied group and HOMA and PPP, PAI, CPP in FHA group were found. The insulin concentrations correlated significantly with CPP and PPP in studied group.

**Conclusions.** In women with FHA lowered mean central stiffness indices (CPP and CAP) can be found, in comparison to healthy age-matched controls. According to literature data and own results some hemodynamic parameters correlate with anthropometric and metabolic measurements (insulin, glucose, HOMA), which shows that restrictive diet can be considered as an important factor decreasing the arterial stiffness in FHA. The issue of cardio-vascular risk in FHA requires further studies.

#### KEY WORDS

functional hypothalamic amenorrhea, hypoestrogenism, arterial stiffness, augmentation index, pulse pressure, diet

## 10 PIŚMIENICTWO

---

- 1 Perkins RB, Hall JE, Martin KA. Neuroendocrine abnormalities in hypothalamic amenorrhea: spectrum, stability, and response to neurotransmitter modulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1905-11.
- 2 Gordon CM. Functional Hypothalamic Amenorrhea. *New England Journal of Medicine* 2010;363:365-71.
- 3 Liu JH, Bill AH. Stress-associated or functional hypothalamic amenorrhea in the adolescent. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1135:179-84.
- 4 Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Warenik-Szymankiewicz A, Genazzan AR. Functional hypothalamic amenorrhea: Current view on neuroendocrine aberrations. *Gynecological Endocrinology* 2008;24:4-11.
- 5 Nattiv A, Loucks AB, Manore MM, Sanborn CF, Sundgot-Borgen J, Warren MP, American College of Sports Medicine position stand. The female athlete triad. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:1867-82.
- 6 Falsetti L, Gambera A, Barbetti L, Specchia C. Long-term follow-up of functional hypothalamic amenorrhea and prognostic factors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:500-5.
- 7 Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Science* 1974;185:949-51.
- 8 Gallinelli A, Matteo ML, Volpe A, Facchinetti F. Autonomic and neuroendocrine responses to stress in patients with functional hypothalamic secondary amenorrhea. *Fertil Steril* 2000;73:812-6.
- 9 Stafford DE. Altered hypothalamic-pituitary-ovarian axis function in young female athletes: implications and recommendations for management. *Treat Endocrinol* 2005;4:147-54.
- 10 Filicori M, Santoro N, Merriam GR, Crowley WF Jr. Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1136-1144.
- 11 Berga SL, Girton LG. The psychoneuroendocrinology of functional hypothalamic amenorrhea. *Psychiatr Clin North Am* 1989;12:105-16.
- 12 Berga SL, Mortola JF, Girton L, Suh B, Laughlin G, Pham P. Neuro-Endocrine Aberrations in Women with Functional Hypothalamic Amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:301-8.
- 13 Di Carlo C, Tommaselli GA, Filippo E. Menstrual status and serum leptin levels in anorectic and in menstruating women with low body mass indexes. *Fertil Steril* 2002; 78: 376–382.
- 14 Moschos S, Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and reproduction: a review. *Fertil Steril* 2002;77:433-44.



- 
- 15 Chan JL, Mantzoros CS. Role of leptin in energy-deprivation states: normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhoea and anorexia nervosa. *Lancet* 2005;366:74-85
- 16 Roa J, Herbison AE. Direct regulation of GnRH neuron excitability by arcuate nucleus POMC and NPY neuron neuropeptides in female mice. *Endocrinology*. 2012; 153(11):5587-99.
- 17 Beranová L, Sedláčková D, Kopecková J. Neuropeptide Y, ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and their changes during six-week refeeding. *Vnitr Lek* 2009; 55: 925-8.
- 18 Meczekalski B, Genazzani AR, Genazzani AD, Warenik-Szymankiewicz A, Luisi M. Clinical evaluation of patients with weight loss-related amenorrhea: neuropeptide Y and luteinizing hormone pulsatility. *Gynecol Endocrinol* 2006; 22: 239-43.
- 19 Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1161-92.
- 20 Mello A, Mello M, Carpenter LL, Price LH. Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2003;25:231-8.
- 21 Dickerson SS, Kemeny ME. Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. *Psychological bulletin* 2004;130:355-91.
- 22 Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A. Patients with Functional Hypothalamic Amenorrhea Are Characterized by Increased Serum Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) Levels. *Reproductive Sciences* 2011;18:318a-a.
- 23 Meczekalski B, Tonetti A, Monteleone P, Bernardi F, Luisi S, Stomati M. Hypothalamic amenorrhea with normal body weight: ACTH, allopregnanolone and cortisol responses to corticotropin-releasing hormone test. *Eur J Endocrinol* 2000;142:280-5.
- 24 Arase K, York DA, Shimizu H, Shargill N, Bray GA. Effects of corticotropin-releasing factor on food intake and brown adipose tissue thermogenesis in rats. *Am J Physiol* 1988; 255: E255-9.
- 25 Krahn DD, Gosnell BA, Grace M, Levine AS. CRF antagonist partially reverses CRF- and stress-induced effects on feeding. *Brain Res Bull* 1986; 17: 285-9.
- 26 Britton DR, Koob GF, Rivier J, Vale W. Intraventricular corticotropin-releasing factor enhances behavioral effects of novelty. *Life Sci* 1982; 31: 363-7.
- 27 Berga SL. Behaviorally induced reproductive compromise in women and men. *Semin Reprod Endocrinol* 1997;15(1):47-53
- 28 Bomba M, Gambera A, Bonini L, Peroni M, Neri F, Scagliola P, Nacinovich R. Endocrine profiles and neuropsychologic correlates of functional hypothalamic amenorrhea in adolescents. *Fertil Steril*. 2007; 87(4):876-85.
- 29 Marcus MD, Loucks TL, Berga SL. Psychological correlates of functional hypothalamic amenorrhea. *Fertil Steril*. 2001;76(2):310-6.

- 
- 30 Dundon CM, Rellini AH, Tonani S, Santamaria V, Nappi R. Mood disorders and sexual functioning in women with functional hypothalamic amenorrhea. *Fertil Steril*. 2010;94(6):2239-43.
- 31 Bomba M, Corbetta F, Bonini L, Gambera A, Tremolizzo L, Neri F, Nacinovich R. Psychopathological traits of adolescents with functional hypothalamic amenorrhea: a comparison with anorexia nervosa. *Eat Weight Disord*. 2013 4. (*publikacja internetowa przed wydaniem w czasopiśmie*)
- 32 Miller KK, Lawson EA, Mathur V, Wexler TL, Meenaghan E, Misra M, Herzog DB, Klibanski A. Androgens in women with anorexia nervosa and normal-weight women with hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Apr;92(4):1334-9.
- 33 McEwen BS. Sex, stress and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging* 2002 23(5):921–939
- 34 Rocca WA, Bower JH, Maraganore DM Increased risk of parkinsonism in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology* 2008 70(3):200–209
- 35 Ackerman KE, Misra M. Bone health and the female athlete triad in adolescent athletes. *The Physician and sportsmedicine* 2011;39:131-41.
- 36 Anderson JM. The female athlete triad: disordered eating, amenorrhea, and osteoporosis. *Connecticut medicine* 1999;63:647-52.
- 37 Bertelloni S, Ruggeri S, Baroncelli GI. Effects of sports training in adolescence on growth, puberty and bone health. *Gynecological Endocrinology* 2006;22:605-12.
- 38 Christo K, Prabhakaran R, Lamparello B, Cord J, Miller KK, Goldstein MA. Bone metabolism in adolescent athletes with amenorrhea, athletes with eumenorrhea, and control subjects. *Pediatrics* 2008;121:1127-36.
- 39 Misra M. What is the best strategy to combat low bone mineral density in functional hypothalamic amenorrhea? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4:542-3.
- 40 Misra M, Prabhakaran R, Miller KK, Goldstein MA, Mickley D, Clauss L. Prognostic indicators of changes in bone density measures in adolescent girls with anorexia nervosa-II. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2008;93:1292-7.
- 41 Lambrinoudaki I, Papadimitriou D. Pathophysiology of bone loss in the female athlete. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2010;1205:45-50.
- 42 Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Genazzani AR. Hypoestrogenism in young women and its influence on bone mass density. *Gynecological endocrinology* 2010;26:652-7.
- 43 Mudd LM, Fornetti W, Pivarnik JM. Bone mineral density in collegiate female athletes: comparisons among sports. *Journal of athletic training* 2007;42:403-8.
- 44 Skałba P. Budowa i czynność układu podwzgórze - przysadka - jajnik. [W:] Skałba P. *Endokrynologia Ginekologiczna*; Warszawa: PZWL; 2008;56-116.
- 45 Lacka K, Czyżyk A. Hormones and the cardiovascular system. *Endokrynol Pol*. 2008; 59(5):420-32.

- 
- 46 Dubey RK, Gillespie DG, Mi Z. Estradiol inhibits smooth muscle cell growth in part by activating the cAMP-adenosine pathway. *Hypertension* 2000; 35: 262–266.
- 47 Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 1999; 340: 1801–1811.
- 48 O’Lone R, Knorr K, Jaffe IŽ. Estrogen receptors alpha and beta mediate distinct pathways of vascular gene expression, including gene involved in mitochondrial electron transport and generation of reactive oxygen species. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1281–1296.
- 49 Christian RC, Liu PY, Harrington S. Intimal estrogen receptor (ER)beta, but not ERalpha expression, is correlated with coronary calcification and atherosclerosis in pre- and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2713–2720.
- 50 Chakrabarti S, Lekontseva O, Davidge ST. Estrogen is a modulator of vascular inflammation. *IUBMB Life* 2008; 60: 376–382.
- 51 White RE, Han G, Maunz M. Endothelium-independent effect of estrogen on Ca(2+)-activated K(+) channels in human coronary artery smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2002;53:650–61.
- 52 Gaskins AJ, Wilchesky M, Mumford SL. Endogenous reproductive hormones and C-reactive protein across the menstrual cycle: The BioCycle Study. *Am J Epidemiol* 2012;175:423–31.
- 53 Mukamal KJ, Muller JE, Maclure M. Variation in the risk of onset of acute myocardial infarction during the menstrual cycle. *Am J Cardiol* 2002;90:49–51.
- 54 Hamelin BA, Méthot J, Arsenault M. Influence of the menstrual cycle on the timing of acute coronary events in premenopausal women. *Am J Med* 2003;114:599–602.
- 55 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.
- 56 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.
- 57 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.
- 58 Heiss G, Wallace R, Anderson GL, Aragaki A, Beresford SA, Brzyski R, Chlebowski RT, Gass M, LaCroix A, Manson JE, Prentice RL, Rossouw J, Stefanick ML; WHI Investigators. Health risks and benefits 3 years after stopping randomized treatment with estrogen and progestin. *JAMA*. 2008;299(9):1036-45.
- 59 ESHRE Capri Workshop Group. Hormones and cardiovascular health in women. *Hum Reprod Update* 2006 ; 12: 483–497.
- 60 Vazquez F, Rodriguez-Manzaneque JC, Lydon JP. Progesterone regulates proliferation of endothelial cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 2185—2192.

- 
- 61 Morey AK, Pedram A, Razandi. Estrogen and progesterone inhibit vascular smooth muscle proliferation. *Endocrinology* 1997; 138: 3330–3339
- 62 Nickenig G, Strehlow K, Wassmann S. Differential effects of estrogen and progesterone on AT(1) receptor gene expression in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2000; 102: 1828–1833.
- 63 Hermenegildo C, Oviedo PJ, García-Martínez MC. Progestogens stimulate prostacyclin production by human endothelial cells. *Hum Reprod* 2005; 20: 1554–1561.
- 64 Rupnow HL, Phernetton TM, Shaw CE. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. VII Estrogen and progesterone effects on eNOS. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H1699–H1705.
- 65 Nakamura H, Kurokawa J, Bai CX. Progesterone regulates cardiac repolarization through a nongenomic pathway: an in vitro patch-clamp and computational modeling study. *Circulation* 2007; 116: 2913–2922.
- 66 Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000;101:948-954.
- 67 Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-1241.
- 68 Rickenlund A, Eriksson MJ, Schenck-Gustafsson K, Hirschberg AL. Amenorrhea in female athletes is associated with endothelial dysfunction and unfavorable lipid profile. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1354-1359.
- 69 Hoch AZ, Papanek P, Azabo A, Widlansky ME, Schimke JE, Gutterman DD. Association between the female triad athlete and endothelial dysfunction in dancers. *Clin J Sport Med* 2011;21:119-125.
- 70 Rickenlund A, Eriksson MJ, Schenck-Gustafsson K, Hirschberg AL. Oral contraceptives improve endothelial function in amenorrheic athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3162-3167.
- 71 Ayres S, Baer J, Subbiah MT Exercised-induced increase in lipid peroxidation parameters in amenorrheic female athletes. *Fertil Steril* 1998; 69:73–77
- 72 Friday KE, Drinkwater BL, Bruemmer B, Chesnut 3rd C, Chait A. Elevated plasma low-density lipoprotein and high-density lipoprotein cholesterol levels in amenorrheic athletes: effects of endogenous hormone status and nutrient intake. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:1605–1609
- 73 Kaiserauer S, Snyder AC, Sleeper M, Zierath J. Nutritional, physiological, and menstrual status of distance runners. *Med Sci Sports Exerc* 1989; 21:120–125
- 74 Fontana L, Meyer TE, Klein S, Holloszy JO Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:6659–6663
- 75 O'Donnell E, Harvey PJ, Goodman JM, De Souza MJ. Longterm estrogen deficiency lowers regional blood flow, resting systolic blood pressure, and heart rate in exercising premenopausal women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292:E1401–E1409

- 
- 76 Wenner MM, Prettyman AV, Maser RE, Farquhar WB. Preserved autonomic function in amenorrheic athletes. *J Appl Physiol* 2006; 101:590–597
- 77 Tanaka M, Sato M, Umehara S, Nishikawa T. Influence of menstrual cycle on baroreflex control of heart rate: comparison with male volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 285:R1091–R1097
- 78 Alvarez GE, Davy BM, Ballard TP, Beske SD, Davy KP. Weight loss increases cardiovagal baroreflex function in obese young and older men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289:E665–E669
- 79 Bairey Merz CN, Johnson BD, Sharaf BL, Bittner V, Berga SL, Braunstein GD, Hodgson TK, Matthews KA, Pepine CJ, Reis SE, Reichel N, Rogers WJ, Pohost GM, Kelsey SF, Sopko G; WISE Study Group. Hypoestrogenemia of hypothalamic origin and coronary artery disease in premenopausal women: a report from the NHLBI-sponsored WISE study. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41(3):413-9.
- 80 Ahmed B, Bairey Merz CN, Johnson BD, Bittner V, Berga SL, Braunstein GD, Hodgson TK, Smith K, Shaw L, Kelsey SF, Sopko G; WISE Study Group. Diabetes mellitus, hypothalamic hypoestrogenemia, and coronary artery disease in premenopausal women (from the National Heart, Lung, and Blood Institute sponsored WISE study). *Am J Cardiol.* 2008; 102(2):150-4.
- 81 Shirwany NA, Zou MH. Arterial stiffness: a brief review. *Acta Pharmacol Sin.* 2010; 31(10):1267-76.
- 82 Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H; European Network for Non-invasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006; 27(21):2588-605.
- 83 Bramwell JC, Hill AV. Velocity of transmission of the pulse-wave and elasticity of the arteries. *Lancet* 1922: 891–2.
- 84 Wilkinson IB, MacCallum H, Flint L, Cockcroft JR, Newby DE, Webb DJ. The influence of heart rate on augmentation index and central arterial pressure in humans. *J Physiol* 2000; 525: 263–70.
- 85 O'Rourke MF, Gallagher DE. Pulse wave analysis. *J Hypertens Suppl* 1996; 14: S147–152
- 86 Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging. *Circulation* 2003; 107: 490–7.
- 87 Watanabe M, Sawai T, Nagura H, Suyama K. Age-related alteration of cross-linking amino acids of elastin in human aorta. *Tohoku J Exp Med* 1996; 180: 115–30.
- 88 Sutton-Tyrrell K, Najjar SS, Boudreau RM, Venkitachalam L, Kupelian V, Simonsick EM. Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults. *Circulation* 2005; 111: 3384–90.
- 89 Chae CU, Pfeffer MA, Glynn RJ, Mitchell GF, Taylor JO, Hennekens CH. Increased pulse pressure and risk of heart failure in the elderly. *JAMA* 1999; 281: 634–9.

- 
- 90 Mitchell GF, Vasan RS, Keyes MJ, Parise H, Wang TJ, Larson MG. Pulse pressure and risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA* 2007; 297: 709–15.
- 91 Zieman SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 932–43.
- 92 Gkaliagkousi E, Douma S. The pathogenesis of arterial stiffness and its prognostic value in essential hypertension and cardiovascular diseases. *Hippokratia* 2009; 13: 70–5.
- 93 Kostis JB, Lawrence-Nelson J, Ranjan R, Wilson AC, Kostis WJ, Lacy CR. Association of increased pulse pressure with the development of heart failure in SHEP. Systolic Hypertension in the Elderly (SHEP) Cooperative Research Group. *Am J Hypertens* 2001; 14: 798–803.
- 94 Vaccarino V, Berger AK, Abramson J, Black HR, Setaro JF, Davey JA. Pulse pressure and risk of cardiovascular events in the systolic hypertension in the elderly program. *Am J Cardiol* 2001; 88: 980–6.
- 95 Mitchell GF, Moye LA, Braunwald E, Rouleau JL, Bernstein V, Geltman EM. Sphygmomanometrically determined pulse pressure is a powerful independent predictor of recurrent events after myocardial infarction in patients with impaired left ventricular function. SAVE investigators. Survival and ventricular enlargement. *Circulation* 1997; 96: 4254–60.
- 96 Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Current evaluation of amenorrhea. *Fertil Steril* 2008; 90: S219-25.
- 97 Genazzani AD, Ricchieri F, Lanzoni C, Strucchi C, Jasonni VM. Diagnostic and therapeutic approach to hypothalamic amenorrhea. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1092: 103-13.
- 98 DSM-IV. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.
- 99 Geithövel F, Rabe T. The ESHRE/ASRM consensus on polycystic ovary syndrome (PCOS)--an extended critical analysis. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 522-35.
- 100 Pietrobelli A, Rubiano F, St-Onge MP, Heymsfield SB. New bioimpedance analysis system: improved phenotyping with whole-body analysis. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58:1479-84.
- 101 Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Toth PP, Kwiterovich PO, Blumenthal RS, Jones SR. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA*. 2013;310(19):2061-8.
- 102 Henderson M1, Rabasa-Lhoret R, Bastard JP, Chiasson JL, Baillargeon JP, Hanley JA, Lambert M. Measuring insulin sensitivity in youth: How do the different indices compare with the gold-standard method? *Diabetes Metab*. 2011;37(1):72-8.
- 103 Vaccarino V, Parsons L, Every NR, Barron HV, Krumholz H. Sex-based differences in early mortality after myocardial infarction. National Registry of Myocardial Infarction 2 Participants. *N Engl J Med* 1999; 341:217–225

- 
- 104 Heart and Stroke Foundation of Canada. Heart disease and stroke in Canada in 1995. Heart and Ottawa: Public Health Canada
- 105 La Vecchia C, Decarli A, Franceschi S, Gentile A, Negri E, Parazzini F. Menstrual and reproductive factors and the risk of myocardial infarction in women under fifty-five years of age. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:1108–1112
- 106 Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, Rich-Edwards JE, Stampfer MJ, Willett WC, Speizer FE, Manson JE. Menstrual cycle irregularity and risk for future cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2013–2017
- 107 Wang ET, Cirillo PM, Vittinghoff E, Bibbins-Domingo K, Cohn BA, Cedars MI. Menstrual irregularity and cardiovascular mortality. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(1):E114-8.
- 108 Daviglius ML, Stamler J, Pirzada A, Yan LL, Garside DB, Liu K, Wang R, Dyer AR, Lloyd-Jones DM, Greenland P. Favorable cardiovascular risk profile in young women and long-term risk of cardiovascular and all-cause mortality. *JAMA.* 2004;292(13):1588-92.
- 109 Safar ME, Blacher J, Protogerou A, Achimastos A. Arterial stiffness and central hemodynamics in treated hypertensive subjects according to brachial blood pressure classification. *J Hypertens.* 2008;26(1):130–137.
- 110 Jankowski P, Kawecka-Jaszcz K, Czarnecka D. Ascending aortic, but not brachial blood pressure-derived indices are related to coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2004;176(1):151–155.
- 111 Roman MJ, Devereux RB, Kizer JR. Central pressure more strongly relates to vascular disease and outcome than does brachial pressure: the Strong Heart Study. *Hypertension.* 2007;50(1):197–203.
- 112 Wang KL, Cheng HM, Chuang SY. Central or peripheral systolic or pulse pressure: which best relates to target organs and future mortality? *J Hypertens.* 2009;27(3):461–467.
- 113 Roman MJ, Okin PM, Kizer JR. Relations of central and brachial blood pressure to left ventricular hypertrophy and geometry: the Strong Heart Study. *J Hypertens.* 2010;28(2):384–388.
- 114 Jankowski P, Kawecka-Jaszcz K, Czarnecka D, Brzozowska-Kiszka M, Styczkiewicz K, Loster M, Kloch-Badełek M, Wiliński J, Curyło AM, Dudek D. Pulsatile but not steady component of blood pressure predicts cardiovascular events in coronary patients. *Hypertension.* 2008;51(4):848-55.
- 115 Hulsen HT, Nijdam ME, Bos WJ. Spurious systolic hypertension in young adults; prevalence of high brachial systolic blood pressure and low central pressure and its determinants. *J Hypertens.* 2006;24(6): 1027–1032.
- 116 Riley WA, Freedman DS, Higgs NA, Barnes RW, Zinkgraf SA, Berenson GS. Decreased arterial elasticity associated with cardiovascular disease risk factors in the young. *Bogalusa Heart Study. Arteriosclerosis* 1986;6: 378–386.

- 
- 117 La Vecchia C, Decarli A, Franceschi S, Gentile A, Negri E, Parazzini F. Menstrual and reproductive factors and the risk of myocardial infarction in women under fifty-five years of age. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:1108–1112
- 118 Robb AO, Mills NL, Din JN. Influence of the menstrual cycle, pregnancy, and preeclampsia on arterial stiffness. *Hypertension* 2009;53:952–8.
- 119 Adkisson EJ, Casey DP, Beck DT. Central, peripheral and resistance arterial reactivity: fluctuates during the phases of the menstrual cycle. *Exp Biol Med* 2010;235:111–8.
- 120 Papaioannou TG, Stamatelopoulos KS, Georgiopoulos G. Arterial wave reflections during the menstrual cycle of healthy women: a reproducibility study. *Hypertension* 2009;54:1021–7.
- 121 Ounis-Skali N, Mitchell GF, Solomon CG. Changes in central arterial pressure waveforms during the normal menstrual cycle. *J Investig Med* 2006; 54(6) :321-6.
- 122 Ostberg JE, Donald AE, Halcox JP, Storry C, McCarthy C, Conway GS. Vasculopathy in Turner syndrome: arterial dilatation and intimal thickening without endothelial dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(9):5161-6.
- 123 Ostberg JE, Storry C, Donald AE, Attar MJ, Halcox JP, Conway GS. A dose-response study of hormone replacement in young hypogonadal women: effects on intima media thickness and metabolism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007; 66(4):557-64.
- 124 Creatsa M, Armeni E, Stamatelopoulos K, Rizos D, Georgiopoulos G, Kazani M, Alexandrou A, Dendrinou S, Augoulea A, Papamichael C, Lambrinouadaki I. Circulating androgen levels are associated with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in healthy recently menopausal women. *Metabolism*. 2012;61(2):193-201.
- 125 Tentolouris N, Christodoulakos G, Lambrinouadaki I, Mandalaki E, Panoulis C, Maridaki C, Creatsas G, Katsilambros N. Effect of hormone therapy on the elastic properties of the arteries in healthy postmenopausal women. *J Endocrinol Invest*. 2005; 28(4):305-11.
- 126 Szejnsznajd C, Silva ME, Nussbacher A, Gebara OE, D'Amico EA, Rocha DM, da Rocha TR, Santos RF, Wajngarten M, Fukui RT, Correia MR, Wajchenberg BL, Ursich MJ. Estrogen treatment improves arterial distensibility, fibrinolysis, and metabolic profile in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2006; 55(7):953-9.
- 127 Lambrinouadaki I, Christodoulakos G, Rizos D, Economou E, Argeitis J, Vlachou S, Creatsa M, Kouskouni E, Botsis D. Endogenous sex hormones and risk factors for atherosclerosis in healthy Greek postmenopausal women. *Eur J Endocrinol*. 2006; 154(6):907-16.
- 128 Bernini GP, Moretti A, Sgró M, Argenio GF, Barlascini CO, Cristofani R, Salvetti A. Influence of endogenous androgens on carotid wall in postmenopausal women. *Menopause*. 2001; 8(1):43-50.



- 
- 129 Golden SH, Maguire A, Ding J, Crouse JR, Cauley JA, Zaccaro H, Szklo M. Endogenous postmenopausal hormones and carotid atherosclerosis: a case-control study of the atherosclerosis risk in communities cohort. *Am J Epidemiol.* 2002; 155(5):437-45.
- 130 Ouyang P, Vaidya D, Dobs A, Golden SH, Szklo M, Heckbert SR, Kopp P, Gapstur SM. Sex hormone levels and subclinical atherosclerosis in postmenopausal women: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2009;204(1):255-61.
- 131 Gooren LJ, Giltay EJ. Review of studies of androgen treatment of female-to-male transsexuals: effects and risks of administration of androgens to females. *J Sex Med.* 2008;5(4):765-76.
- 132 Hougaku H, Fleg JL, Najjar SS, Lakatta EG, Harman SM, Blackman MR, Metter EJ . Relationship between androgenic hormones and arterial stiffness, based on longitudinal hormone measurements. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006; 290(2):E234-42.
- 133 Yaron M, Greenman Y, Rosenfeld JB, Izkhakov E, Limor R, Osher E, Shenkerman G, Tordjman K, Stern N. Effect of testosterone replacement therapy on arterial stiffness in older hypogonadal men. *Eur J Endocrinol.* 2009; 160(5):839-46.
- 134 Gooren LJ, Giltay EJ. Review of studies of androgen treatment of female-to-male transsexuals: effects and risks of administration of androgens to females. *J Sex Med.* 2008;5(4):765-76.
- 135 Dagher AG, Lekakis JP, Papaioannou TG, Papamichael CM, Koutras DA, Stamatelopoulos SF, Alevizaki M. Arterial stiffness is increased in subjects with hypothyroidism. *Int J Cardiol.* 2005; 103(1):1-6.
- 136 Owen PJ, Rajiv C, Vinereanu D, Mathew T, Fraser AG, Lazarus JH. Subclinical hypothyroidism, arterial stiffness, and myocardial reserve. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(6):2126-32.
- 137 Obuobie K, Smith J, Evans LM, John R, Davies JS, Lazarus JH. Increased central arterial stiffness in hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(10):4662-6.
- 138 Peleg RK, Efrati S, Benbassat C, Fygenzo M, Golik A. The effect of levothyroxine on arterial stiffness and lipid profile in patients with subclinical hypothyroidism. *Thyroid.* 2008; 18(8):825-30.
- 139 Stamatelopoulos KS, Kyrkou K, Chrysochoou E, Karga H, Chatzidou S, Georgiopoulos G, Georgiou S, Xiromeritis K, Papamichael CM, Alevizaki M. Arterial stiffness but not intima-media thickness is increased in euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis: The effect of menopausal status. *Thyroid.* 2009; 19(8):857-62.
- 140 Georgiopoulos GA, Stamatelopoulos KS, Lambrinoudaki I, Lykka M, Kyrkou K, Rizos D, Creatsa M, Christodoulakos G, Alevizaki M, Sfrikakis PP, Papamichael C. Prolactin and preclinical atherosclerosis in menopausal women with cardiovascular risk factors. *Hypertension.* 2009; 54(1):98-105.
- 141 Carrero JJ, Kyriazis J, Sonmez A, Tzanakis I, Qureshi AR, Stenvinkel P, Saglam M, Stylianou K, Yaman H, Taslipinar A, Vural A, Gok M, Yenicesu M, Daphnis E, Yilmaz MI. Prolactin levels, endothelial

---

dysfunction, and the risk of cardiovascular events and mortality in patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012; 7(2):207-15.

142 Wildman RP, Farhat GN, Patel AS, Mackey RH, Brockwell S, Thompson T, Sutton-Tyrrell K. Weight change is associated with change in arterial stiffness among healthy young adults. *Hypertension*. 2005; 45(2):187-92.

143 Dengo AL, Dennis EA, Orr JS, Marinik EL, Ehrlich E, Davy BM, Davy KP. Arterial destiffening with weight loss in overweight and obese middle-aged and older adults. *Hypertension*. 2010; 55(4):855-61.

144 Cooper JN, Buchanich JM, Youk A, Brooks MM, Barinas-Mitchell E, Conroy MB, Sutton-Tyrrell K. Reductions in arterial stiffness with weight loss in overweight and obese young adults: potential mechanisms. *Atherosclerosis*. 2012; 223(2):485-90.

145 Ahmet I, Tae HJ, de Cabo R, Lakatta EG, Talan MI. Effects of calorie restriction on cardioprotection and cardiovascular health. *J Mol Cell Cardiol* 2011 51: 263–271.

146 Fornieri C, Taparelli F, Quaglino D Jr, Contri MB, Davidson JM, Algeri S, Ronchetti IP. The effect of caloric restriction on the aortic tissue of aging rats. *Connect Tissue Res* 1999; 40: 131–143.

147 Yan J, Stringer SE, Hamilton A, Charlton-Menys V, Gotting C, Muller B, Aeschlimann D, Alexander MY. Decorin GAG synthesis and TGF-beta signaling mediate Ox-LDL-induced mineralization of human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 608– 615.

148 Castello L, Froio T, Cavallini G, Biasi F, Sapino A, Leonarduzzi G, Bergamini E, Poli G, Chiarpotto E. Calorie restriction protects against age-related rat aorta sclerosis. *FASEB J* 2005;19: 1863–1865.

149 Wilkinson IB, Qasem A, McEniery CM, Webb DJ, Avolio AP, Cockcroft JR. Nitric oxide regulates local arterial distensibility in vivo. *Circulation* 2002;105: 213–217.

150 Sikka G, Yang R, Reid S, Benjo A, Koitabashi N, Camara A, Baraban E, O'Donnell CP, Berkowitz DE, Barouch LA. Leptin is essential in maintaining normal vascular compliance independent of body weight. *Int J Obes (Lond)*. 2010; 34(1):203-6.

151 Soleimany G, Dadgostar H, Lotfian S, Moradi-Lakeh M, Dadgostar E, Movaseghi S. Bone Mineral Changes and Cardiovascular Effects among Female Athletes with Chronic Menstrual Dysfunction. *Asian J Sports Med*. 2012; 3(1):53-8

152 Rigaud D, Tallonneau I, Vergès B. Hypercholesterolaemia in anorexia nervosa: frequency and changes during refeeding. *Diabetes Metab*. 2009; 35(1):57-63.

153 Pal S, Radavelli-Bagatini S. Association of arterial stiffness with obesity in Australian women: a pilot study. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2013; 15(2):118-23.

154 Riggio S, Mandraffino G, Sardo MA, Iudicello R, Camarda N, Imbalzano E, Alibrandi A, Saitta C, Carerj S, Arrigo T, Saitta A. Pulse wave velocity and augmentation index, but not intima-media thickness, are early indicators of vascular damage in hypercholesterolemic children. *Eur J Clin Invest*. 2010; 40(3):250-7.

- 
- 155 Wilkinson IB, Prasad K, Hall IR, Thomas A, MacCallum H, Webb DJ, Frenneaux MP, Cockcroft JR. Increased central pulse pressure and augmentation index in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39(6):1005-11.
- 156 Westerbacka J, Wilkinson I, Cockcroft J, Utriainen T, Vehkavaara S, Yki-Järvinen H. Diminished wave reflection in the aorta. A novel physiological action of insulin on large blood vessels. *Hypertension.* 1999; 33(5):1118-22.
- 157 Westerbacka J, Tamminen M, Cockcroft J, Yki-Järvinen H. Comparison of in vivo effects of nitroglycerin and insulin on the aortic pressure waveform. *Eur J Clin Invest.* 2004; 34(1):1-8.
- 158 Tamminen M, Westerbacka J, Vehkavaara S, Yki-Järvinen H. Insulin-induced decreases in aortic wave reflection and central systolic pressure are impaired in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002; 25(12):2314-9.
- 159 Wilkinson IB, MacCallum H, Rooijmans DF, Murray GD, Cockcroft JR, McKnight JA, Webb DJ. Increased augmentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *QJM.* 2000;93(7):441-8.
- 160 Sommerfield AJ, Wilkinson IB, Webb DJ, Frier BM. Vessel wall stiffness in type 1 diabetes and the central hemodynamic effects of acute hypoglycemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(5):
- 161 Gordin D, Rönnback M, Forsblom C, Heikkilä O, Saraheimo M, Groop PH. Acute hyperglycaemia rapidly increases arterial stiffness in young patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2007; 50(9):1808-14.
- 162 Fang FS, Liu MY, Cheng XL, Zhong WW, Miao XY, Li J, Li CL, Tian H. Insulin Resistance Correlates with the Arterial Stiffness before Glucose Intolerance. *Intern Med.* 2014;53(3):189-94.
- 163 Dostálová I, Smitka K, Papezová H, Kvasnicková H, Nedvídková J. Increased insulin sensitivity in patients with anorexia nervosa: the role of adipocytokines. *Physiol Res.* 2007;56(5):587-94.