

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
Β' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ & ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Κ.ΚΡΕΑΤΣΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΠΑΙΔΙΚΗΣ – ΕΦΗΒΙΚΗΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
& ΕΠΑΝΟΡΘΩΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

Επίδραση της ορμονικής  
θεραπείας στο καρδιαγγειακό  
σύστημα των φαινοτυπικά  
θηλέων ατόμων με αμιγή ή μεικτή  
γοναδική δυσγενεσία τύπου ΧΥ ή  
με διαταραχές διαφοροποίησης  
του φύλου με καρυότυπο ΧΥ

---

Διδακτορική Διατριβή  
Παντελή Ανδρ. Τσίμαρη  
Μαιευτήρος Γυναικολόγου  
IFEPAG Fellow

---

Αθήνα 2014







## Περιεχόμενα

ΟΡΚΟΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ.....	9
Ευχαριστίες.....	10
Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα.....	12
Περίληψη.....	13
Επίδραση της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα των φαινοτυπικά θηλέων ατόμων με αμιγή ή μεικτή γοναδική δυσγενεσία τύπου XY ή με διαταραχές διαφοροποίησης του φύλου με καρυότυπο XY.....	13
Λέξεις Κλειδιά .....	14
Abstract.....	15
The effect of hormone therapy in the cardiovascular system of phenotypically female patients with XY Pure or Mixed Gonadal Dysgenesis, or XY Disorders of Sex Differentiation .....	15
Keywords: .....	16
46,XY ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ (46,XY DSD) .....	17
46 XY, DSD οφειλόμενες σε ανωμαλίες κατά την ανάπτυξη της γονάδας .....	20
Αγενεσία γονάδας .....	20
46 XY, DSD οφειλόμενες σε δυσγενεσία της γονάδας Πλήρης ή μερική 46XY γοναδική δυσγενεσία.....	20
Σύνδρομο παλινδρόμησης των εμβρυικών όρχεων (Embryonic testicular regression syndrome) .....	22
Γοναδική δυσγενεσία στο πλαίσιο ενός συνδρόμου .....	22
46XY DSD οφειλόμενη σε μειωμένη έκφραση του γονιδίου <i>WT1</i> .....	23
46XY DSD λόγω μειωμένης έκφρασης του στεροειδογενετικού παράγοντα-1 [steroidogenic factor-1 ( <i>NR5A1/SF1</i> )].....	23
46XY DSD σχετιζόμενη με καμπτομελική δυσπλασία (campromelic dysplasia) (μειωμένη έκφραση του γονιδίου <i>SOX9</i> ) .....	24
Σπάνια σύνδρομα που σχετίζονται με 46XY DSD λόγω γοναδικής δυσγενεσίας .....	24
46XY DSD λόγω υπερέκφρασης του γονιδίου <i>DAX1</i> .....	25
46XY DSD λόγω υπερέκφρασης του γονιδίου <i>WNT4</i> .....	25
46XY DSD σχετιζόμενη με διαταραχή στην σύνθεση της χοληστερόλης.....	26
Σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz (SLOS).....	26
46XY DSD σχετιζόμενη με διαταραχή στην σύνθεση της τεστοστερόνης .....	27
46XY DSD οφειλόμενη σε διαταραχή διαφοροποίησης των Leydig κυττάρων (πλήρης μορφή & μερική).....	27

46XY DSD λόγω ενζυμικής ανεπάρκειας στην βιοσύνθεση της Τεστοστερόνης (Τ) .....	28
Διαταραχές σύνθεσης κορτικοστεροειδών και Τ .....	29
Congenital lipoid adrenal hyperplasia. Συγγενής λιποειδική υπερπλασία των επινεφριδίων. 29	
Ανεπάρκεια της πρωτεΐνης STAR.....	30
Ανεπάρκεια του P450sc.....	30
Ανεπάρκεια της 3β-υδροξυστεροειδικής αφυδρογονάσης (3β-HSD) τύπου II. ....	31
Ανεπάρκεια της P450c17 (17-υδροξυλάση και 17-20 λυάση).....	31
Διαταραχή της στεροειδογένεσης στο όρχι.....	32
Ανεπάρκεια του ενζύμου P450c17 (δράση 17,20 λυάσης) .....	32
46XY DSD λόγω ανεπάρκειας του ενζύμου 17β-HSD τύπου III. ....	32
Τροποποιημένη στεροειδογένεση λόγω διαταραχής των πρωτεϊνών φορέων ηλεκτρονίων .....	33
46,XY DSD λόγω διαταραχής του μεταβολισμού της Τεστοστερόνης.....	33
Ανεπάρκεια της 5α-αναγωγάσης τύπου II (5RD2).....	33
46XY DSD λόγω διαταραχής στην δράση των ανδρογόνων .....	35
Σύνδρομο παραμενόντων πόρων του Muller (Persistent Mullerian Duct Syndrome = PMDS) .....	37
Ανεπάρκεια σύνθεσης της Αντι-Μυλλερίου Ορμόνης (AMH) .....	37
Ανεπάρκεια του υποδοχέα της AMH τύπου II. ....	37
Συγγενής, μη γενετική 46XY DSD .....	38
Λήψη ενδοκρινικών διαταρακτών από την έγκυο. ....	38
Συγγενής μη γενετική 46XY DSD σχετιζόμενη με διαταραγμένη ενδομήτρια ανάπτυξη.....	38
Ωοθηκορχική 46XY, DSD .....	39
ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΛΛΕΙΨΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΝΔΡΟΓΟΝΑ (Androgen Insensitivity Syndrome = AIS).....	40
Σύνδρομο πλήρους έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (CAIS) .....	42
Σύνδρομο μερικής έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (PAIS) .....	46
Σύνδρομο ήπιας έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (MAIS) .....	49
Παθογένεια σε μοριακό επίπεδο .....	50
Γενικές αρχές αντιμετώπισης.....	51
Αντιμετώπιση CAIS.....	55
Σύνδρομο μερικής έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (PAIS) .....	60
Σύνδρομο Swyer .....	63
Αρτηριοσκλήρυνση – Καρδιαγγειακή νόσος.....	75

Εισαγωγή.....	75
Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης (ΘΟΥ) και Αθηρωματική νόσος.....	78
Οιστρογόνα και ενδοθήλιο.....	81
Η χρήση αντιπροσωπευτικών δεικτών στην μελέτη της αρτηριοσκλήρυνσης.....	87
Η Χοληστερόλη οδηγεί σε Αθηροσκλήρυνση. Υπάρχει οιστρογονική τροποποίηση? .....	89
Οιστρογόνα και αθηρογένεση.....	93
Οιστρογόνα και μεταβολισμός λιπιδίων .....	96
Κλινικές μελέτες: περιορισμοί και πρόσφατα δεδομένα.....	99
Συμπερασματικά.....	103
Βιοχημικοί δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας.....	104
Vascular Endothelial Cadherin (VE-Cadherin) .....	104
Διαλυτή Ε-Σελεκτίνη / Soluble E-selectin (sE-Selectin).....	106
sE-Selectin και καρδιαγγειακή νόσος .....	107
sE-Selectin & παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου .....	108
Η χρήση της sE-Selectin σε παρεμβατικές μελέτες.....	109
Παράγοντας von Willebrand / von Willebrand factor (vWf).....	110
vWf και καρδιαγγειακή νόσος.....	110
vWf και παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου .....	111
Η χρήση του vWF σε παρεμβατικές μελέτες.....	111
Διαλυτή Θρομβομοντουλίνη / Soluble Thrombomodulin – Stm.....	113
Soluble Thrombomodulin και καρδιαγγειακή νόσος.....	113
Soluble Thrombomodulin & παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου.....	115
Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας μετά από αντιδραστική υπεραιμία .....	116
Brachial artery flow mediated dilatation - FMD.....	116
Μεθοδολογία.....	118
Προετοιμασία ασθενών .....	118
Επιλογή σημείου για την εκτέλεση των μετρήσεων .....	119
Τοποθέτηση της περιχειρίδας. ....	120
Χρόνος παραμονής της περιχειρίδας.....	120
Ανάλυση των αποτελεσμάτων της FMD.....	121
FMD και παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου.....	122

FMD και εκδηλώσεις της καρδιαγγειακής νόσου .....	123
Η FMD ως μέθοδος εκτίμησης της αποτελεσματικότητας θεραπευτικών πρωτοκόλλων .....	124
Συμπεράσματα .....	127
Πάχος έσω-μέσου χιτώνα – Intima media thickness (IMT).....	128
Τεχνική της μέτρησης με B-mode υπερηχογραφία.....	129
Αλλαγές στο IMT και κίνδυνος ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου .....	132
Μελέτες παρατήρησης – Observational Studies.....	133
Παρεμβατικές Μελέτες .....	134
Συμπεράσματα .....	137
Επίδραση της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα των φαινοτυπικά θηλέων ατόμων με αμιγή ή μεικτή γοναδική δυσγενεσία τύπου XY ή με διαταραχές διαφοροποίησης του φύλου με καρυότυπο XY .....	139
Εισαγωγή – Σκοπός της μελέτης.....	139
Υλικό και Μέθοδοι .....	144
Ασθενείς .....	144
Μετρήσεις.....	147
Μετρήσεις βιοχημικές και ορμονικές .....	147
Flow Mediated Dilatation .....	149
Πάχος Έσω-Μέσου Χιτώνα .....	150
Στατιστική ανάλυση.....	151
Αποτελέσματα .....	152
Εργαστηριακή Αξιολόγηση του Θεραπευτικού Σχήματος .....	155
Λιπιδαιμικό Προφίλ .....	155
Δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας πλάσματος.....	162
Υπερηχογραφικά ευρήματα.....	167
Συνοπτική αξιολόγηση του θεραπευτικού σχήματος.....	175
Διερεύνηση Γραμμικών Συσχετίσεων .....	176
AIP Προ Θεραπείας.....	176
AIP Μετά τη θεραπεία.....	179
VE-Cadherin προ θεραπείας .....	182
VE-Cadherin μετά θεραπεία.....	184
E-Selectin προ θεραπείας.....	186
E-Selectin μετά θεραπείας.....	187



vWF προ θεραπείας .....	188
vWF μετά θεραπεία.....	189
Thrombomodulin προ θεραπείας .....	191
Thrombomodulin μετά θεραπεία .....	192
FMD προ και μετά θεραπείας .....	193
Συσχετίσεις μεταξύ των διαφορών .....	194
Συμπεράσματα που προκύπτουν από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων .....	196
ΣΥΝΟΛΙΚΑ: .....	201
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	203
Βιβλιογραφία.....	208

## ΟΡΚΟΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

" Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην πανάκεια και σ' όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί μου τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας. Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τ' αδέρφια μου και να τους διάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σ' αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για ν' αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά ν' αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σ' όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είθε ν' απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά".

Προέλευση: <http://school.med.uoa.gr/2011-12-03-21-28-49.html>

## Ευχαριστίες

Στο παρόν σημείο θα ήθελα να εκφράσω τις βαθύτατες ευχαριστίες μου σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνηση αυτής της διαδακτορικής διατριβής.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Τον Καθηγητή Μαιευτικής Γυναικολογίας και Διευθυντή της Β΄ Μαιευτικής Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. **Γεώργιο Κρεατσά**, ο οποίος με εδέχθηκε στην κλινική του, μου έδωσε την ευκαιρία να μετεκπαιδευθώ στην Παιδική Εφηβική Γυναικολογία και μου εμπιστεύτηκε την εκπόνηση του παρόντος θέματος.

Τον Καθηγητή Μαιευτικής Γυναικολογίας και Υπεύθυνο του Τμήματος Παιδικής Εφηβικής Γυναικολογίας και Επανορθωτικής Χειρουργικής της Β΄ Μαιευτικής Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. **Ευθύμιο Δεληγεώργου**, ο οποίος ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής και επιβλέπων της παρούσης διδακτορικής διατριβής μου ανέθεσε το συγκεκριμένο θέμα και με καθοδήγησε σε όλα τα στάδια διεκπαιρέωσής του.

Τον Επίκουρο Καθηγητή και Υπεύθυνο του Εργαστηρίου Θεραπευτικής Εξατομίκευσης του Αρεταιείου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου, κ. **Εμμανουήλ Οικονόμου** ο οποίος ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής με καθοδήγησε στον σχεδιασμό της παρούσας μελέτης και μου προσέφερε απεριόριστη βοήθεια ειδικά σε θέματα ερμηνείας των στατιστικών αποτελεσμάτων. Στο εργαστήριό του διεξήχθησαν οι μετρήσεις των βιοχημικών παραμέτρων της μελέτης.

Τον Επίκουρο Καθηγητή κ. **Κίμωνα Σταματελλόπουλο** και τον Διευθυντή ΕΣΥ κ. **Χρήστο Παπαμιχαήλ** οι οποίοι επιμελήθηκαν των υπερηχογραφικών μετρήσεων των συμμετεχουσών ασθενών, στο Αγγειολογικό Εργαστήριο της Θεραπευτικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή και Υπεύθυνο του Τμήματος Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας της Β΄ Μαιευτικής Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. **Γεώργιο**

**Μαστοράκο**, ο οποίος ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής μου προσέφερε απλόχερα την βοήθεια και την καθοδήγησή του σε θέματα γυναικολογικής ενδοκρινολογίας.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια και Υπεύθυνη του Τμήματος Εμμηνόπαυσης της Β' Μαιευτικής Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. **Ειρήνη Λαμπρινουδάκη** για την αμέριστη βοήθεια της σε θέματα ορμονικής υποκατάστασης.

Τον Επίκουρο Καθηγητή και Υπεύθυνο του Ορμονολογικού Εργαστηρίου κ. **Δημήτριο Ρίζο**, ο οποίος επιμελήθηκε των ορμονικών μετρήσεων και των μετρήσεων του λιπιδαιμικού προφίλ των συμμετεχουσών ασθενών

Τον ιατρό κ **Νικόλαο Αθανασόπουλο**, συνεργάτη του Τμήματος Παιδικής Εφηβικής Γυναικολογίας και Επανορθωτικής Χειρουργικής της Β' Μαιευτικής Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για την πολυτιμότερη βοήθειά του σε όλα ανεξαιρέτως τα στάδια διεκπαιρέωσης της παρούσας διατριβής.

Τέλος θα ήθελα να ζητήσω συγνώμη σε όσους εκ παραδρομής δεν αναφέρονται στο συγκεκριμένο σημείο και οι οποίοι συνετέλεσαν σε οποιοδήποτε στάδο της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

## Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

**Παντελής Ανδρ. Τσίμαρης**

**Μαιευτήρ Γυναικολόγος**

**IFEPAG Fellow**

- 1997* : Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Πατρών
- 2004* : Ειδικότητα Μαιευτικής Γυναικολογίας
- 2004-2006* : Εξειδίκευση στην Παιδική – Εφηβική Γυναικολογία & Επανορθωτική Χειρουργική – Β΄ Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών – Αρεταίειον Νοσοκομείο.
- 2006* : Διεθνής Πιστοποίηση στην Παιδική – Εφηβική Γυναικολογία υπό την αιγίδα της Παγκόσμιας Εταιρείας Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας [International Federation of Pediatric and Adolescent Gynecology (FIGIJ)]
- 2004....* : Επιστημονικός Συνεργάτης Τμήματος Παιδικής – Εφηβικής Γυναικολογίας & Επανορθωτικής Χειρουργικής – Β΄ Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών – Αρεταίειον Νοσοκομείο.
- 2004.....* : Μαιευτήρ Γυναικολόγος Γενικής, Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής «Μητέρα» , Ομίλου Υγεία
- 2010.....* : Υπεύθυνος Τμήματος Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας Παιδιατρικής Κλινικής «Μητέρα», Ομίλου Υγεία
- 2005-2013* : Μαιευτήρ Γυναικολόγος Ιδρύματος Κοινωνικής Ασφάλισης (ΙΚΑ-ΕΤΑΜ)
- 2014* : Μέλος Διοικητικού Συμβουλίου Ελληνικής Εταιρείας Οικογενειακού Προγραμματισμού, Αντισύλληψης & Αναπαραγωγικής Υγείας

- Μέλος 7 Επιστημονικών Εταιρειών.
- Συμμετοχή σε 62 Συνέδρια.
- Συμμετοχή σε 78 Παρουσιάσεις - Δημοσιεύσεις.

## Περίληψη

Επίδραση της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα των φαινοτυπικά θηλέων ατόμων με αμιγή ή μεικτή γοναδική δυσγενεσία τύπου XY ή με διαταραχές διαφοροποίησης του φύλου με καρυότυπο XY

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής απετέλεσε η μελέτη της επίδρασης της ορμονικής θεραπείας (HT) στην ενδοθηλιακή λειτουργία των ασθενών με 46,XY διαταραχή ανάπτυξης του φύλου και φαινότυπο θήλεος. Μελετήθηκαν βιοχημικές και υπερηχογραφικές παράμετροι σε 20 περιστατικά κατά την έναρξη και 6 μήνες μετά από χορήγηση από το στόμα 2mg 17β-οιστραδιόλης και 1 mg οξικής νορεθιστερόνης. Από το λιπιδαιμικό προφίλ, στο οποίο περιλαμβάνονταν η ολική χοληστερόλη, η LDL, η HDL και τα τριγλυκερίδια, υπολογίσθηκε ο τροποποιημένος αθηρωματικός δείκτης (AIP). Επιπλέον μετρήθηκαν η VE Cadherin, η sE-Selectin, η sThrombomodulin, και ο παράγοντας von Willebrand. Υπερηχογραφικές παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν η εξαρτώμενη από την ροή αγγειοδιαστολή (FMD) της βραχιονίου αρτηρίας και το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (IMT) των καρωτίδων και των μητριάων αρτηριών. Η εξάμηνη HT προκάλεσε αύξηση της HDL (από 35.4mg/dl σε 40.1mg/dl,  $p=0.019$ ) παραδόξως επέφερε μείωση των τριγλυκεριδίων (από 166mg/dl σε 109mg/dl,  $p=0.026$ ) και φυσιολογικά επήλθε μείωση του AIP (από 0.24 σε 0.04,  $p=0.007$ ). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στην ολική χοληστερόλη και στην LDL (από 215.7mg/dl σε 192.25mg/dl και από 87.46mg/dl σε 76.35mg/dl, αντίστοιχα). Κατεγράφη στατιστικά σημαντική μείωση της VE-Cadherin (από 4.05ng/ml σε 2.20ng/ml,  $p=0.002$ ) και της διαλυτής E-selectin (από 73.98ng/ml σε 56.73ng/ml,  $p=0.004$ ). Δεν ανεδείχθησαν σημαντικές μεταβολές στην Thrombomodulin και στον vWf (από

11.76ng/ml σε 13.90ng/ml και από 80.75% σε 79.55%, αντίστοιχα). Η FMD βελτιώθηκε στατιστικά σημαντικά ( $p=0.003$ ) (από 5.4% σε 8.15%,  $p=0.003$ ), ενώ μόνο στον καρωτικό βολβό το IMT μειώθηκε στατιστικά σημαντικά (0.065 cm vs 0.060 cm,  $p=0.018$ ). Συνολικά η εξαήμενη HT βελτίωσε το λιπιδαιμικό προφίλ, τις βιοχημικές και τις υπερηχογραφικές παραμέτρους της ενδοθηλιακής λειτουργίας στις ασθενείς με 46,XY διαταραχή ανάπτυξης του φύλου και φαινότυπο θήλεως. Τα προαναφερθέντα αποτελέσματα χρήζουν επιβεβαιώσεως ή αναθεωρήσεως μέσα από μεγαλύτερες αριθμητικά και χρονικά μελέτες.

#### Λέξεις Κλειδιά

Καντχερίνη, E-Σελεκτίνη, Θρομβομοντουλίνη, Παράγοντας von Willebrand, Εξαρτώμενη από την ροή αγγειοδιαστολή (FMD), Πάχος Έσω-Μέσου Χιτώνα (IMT), Ορμονική Θεραπεία, Σύνδρομο Swyer , Γοναδική Δυσγενεσία, Σύνδρομο Πλήρους Έλλειψης Ευαισθησίας στα Ανδρογόνα (CAIS).

## Abstract

### The effect of hormone therapy in the cardiovascular system of phenotypically female patients with XY Pure or Mixed Gonadal Dysgenesis, or XY Disorders of Sex Differentiation

The aim of this study was to evaluate the effect of hormone therapy (HT) in the endothelial function of 46, XY DSD patients with female phenotype. Biochemical and ultrasound measurements were performed in 20 patients at initiation of oral 2mg 17 $\beta$ -estradiol/1mg norethisterone acetate, and after six months of therapy. Lipid profile, including total cholesterol (TC), LDL, HDL, triglycerides (TG) and Atherogenic Index of Plasma (AIP), as well as levels of VE-Cadherin, E-Selectin, Thrombomodulin and vWf were determined. Ultrasonographic examinations included evaluation of Flow Mediated Dilatation (FMD) and measurement of Carotid and Femoral Intima Media Thickness (IMT). HT raised HDL (35.4mg/dl vs 40.1mg/dl,  $p=0.019$ ) while lowering TG (166mg/dl vs 109mg/dl,  $p=0.026$ ) and AIP (0.24 vs 0.04,  $p=0.007$ ). No changes were noted in TC and LDL (215.7mg/dl vs 192.25mg/dl and 87.46mg/dl vs 76.35mg/dl, respectively). There was significant reduction of VE-Cadherin (4.05ng/ml vs 2.20ng/ml,  $p=0.002$ ) and E-selectin (73.98ng/ml vs 56.73ng/ml,  $p=0.004$ ). No change was observed in Thrombomodulin and vWf (11.76ng/ml vs. 13.90ng/ml and 80.75% vs 79.55%, respectively). FMD improved significantly ( $p=0.003$ ) (5.4% vs 8.15%,  $p=0.003$ ), while only carotid bulb IMT decreased significantly (0.65 mm vs 0.60 mm,  $p=0.018$ ). Overall, Six months of HT administration improves biochemical and ultrasound markers of endothelial function in 46XY DSD patients with female phenotype. Further research is needed in order to confirm the results observed in this study.



Keywords:

VE-Cadherin, E-Selectin, Thrombomodulin, vWf, Flow Mediated Dilatation, FMD, Intima Media Thickness, IMT, HRT, Swyer syndrome, Gonadal dysgenesis, Complete Androgen Insensitivity Syndrome, CAIS.

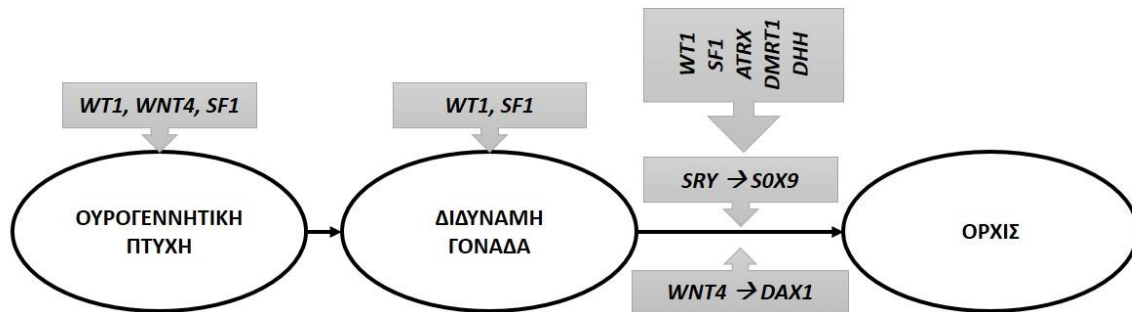
## 46,XY ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ (46,XY DSD)

Ο όρος διαταραχές ανάπτυξης του φύλου (DSD) χρησιμοποιείται για να περιγράψει όλες τις περιπτώσεις στις οποίες επισυμβαίνει άτυπη ανάπτυξη του χρωμοσωμιακού ή του γοναδικού ή του ανατομικού φύλου. Μεταλλάξεις των γονιδίων στο X, Y ή στα αυτοσωματικά χρωμοσώματα μπορούν να προκαλέσουν ανωμαλίες στην διαφοροποίηση του όρχεως ή διαταραχές στην διαφοροποίηση των γεννητικών οργάνων με αποτέλεσμα να προκύπτει 46,XY DSD. Η λεπτομερής εκτίμηση του κλινικού φαινοτύπου οδηγεί στην ανάδειξη μεταλλαγμένων πρωτεϊνών προκειμένου να ερμηνευτούν νέα άγνωστα βιοχημικά μονοπάτια.

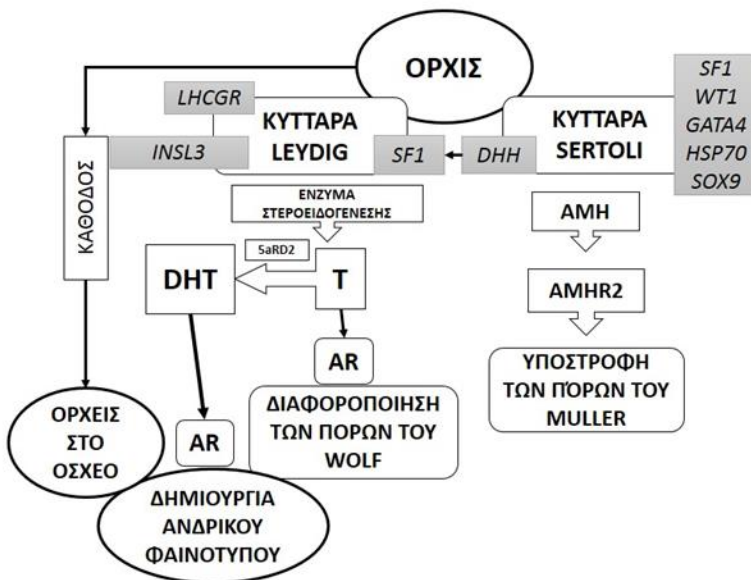
Η ανάπτυξη του αρρενος φαινότυπου προκύπτει μέσω δύο σταδίων: 1) την διαφοροποίηση της αρχέγονης διδύναμης γονάδας σε όρχι (καθορισμός φύλου) και 2) την διαφοροποίηση των έξω και έσω γεννητικών οργάνων μέσω παραγόντων που εκκρίνονται από τους όρχεις (διαφοροποίηση φύλου). Το πρώτο στάδιο είναι ιδιαίτερα πολύπλοκο και συμμετέχουν πολλαπλοί μεταγραφικοί παράγοντες (Εικόνα 1). Το δεύτερο στάδιο, η διαφοροποίηση του φύλου, είναι μια πιο απλή ευκρινής ευθεία διαδικασία (Εικόνα 2).

Παλαιότεροι όροι όπως “άρρην ψευδεμφροδισμός”, “διφυλομορφία”, “αναστροφή του φύλου” έχουν αντικατασταθεί από τον όρο DSD καθώς θεωρήθηκαν αρκούντως υποτιμητικοί. Οι 46,XY DSD (διαταραχές ανάπτυξης του φύλου) χαρακτηρίζονται από αμφιβόλου φύλου ή γυναικεία έξω γεννητικά όργανα, αποτέλεσμα ατελούς ενδομήτριας αρρενοποίησης και από την παρουσία ή απουσία των δομών που προέρχονται από τους πόρους του Muller. Η πλήρης απουσία αρρενοποίησης οδηγεί στην

δημιουργία φυσιολογικών έξω γεννητικών οργάνων θήλεος. Οι ασθενείς αυτές συνηθέστερα αποζητούν βοήθεια κατά την εφηβεία λόγω απουσίας ανάπτυξης μαστού ή λόγω πρωτοπαθούς αμηνόρροιας.



**Εικόνα 1.** Στην εικόνα αυτή παρουσιάζονται τα γονίδια που συμμετέχουν στην διαφοροποίηση του φύλου και των οποίων η δυσλειτουργία οδηγεί σε 46,XY DSD στους ανθρώπους. Τα γονίδια *SF1*, *WNT4* και *WT1* εκφράζονται στην ουρογεννητική πτυχή, οδηγούν στην δημιουργία της διδύναμης γονάδας, των νεφρών και του φλοιού των επινεφριδίων. *SF1* και *WT1* διατηρούν την έκφρασή τους στην γονάδα και προάγουν την έκφραση του γονιδίου *SRY*. Η έκφραση του γονιδίου *SRY* στα προ-Sertoli κύτταρα πυροδοτεί την ανάπτυξη της ανδρικής γονάδας. Το γονίδιο *SRY* προάγει έντονα την έκφραση του *SOX9* στα κύτταρα Sertoli. Τα γονίδια *DMRT1*, *ATRX* & *DHH* επίσης συμμετέχουν στην διαφοροποίηση του όρχεως. Το *WNT4* ενεργοποιεί το *DAX1*. Το *SRY* καταστέλλει τα *WNT4* & *DAX1*. Η έκφραση του *DAX1* ή του *WNT4* ανταγωνίζεται την δημιουργία του όρχεως.



**Εικόνα 2.** Περίληψη των μοριακών αντιδράσεων που συμμετέχουν στην διαφοροποίηση του φύλου και των γονιδίων των οποίων η δυσλειτουργία οδηγεί σε 46,XY DSD.

Μετά την διαφοροποίηση των όρχεων, οι παραγόμενες ορμόνες προάγουν την διαφοροποίηση των έσω & έξω γεννητικών οργάνων μέσω των αντίστοιχων υποδοχέων. Η ρύθμιση του γονιδίου της *AMH* απαιτεί την συνδυασμένη δράση των *SOX9*, *SF1*, *WT1*, *GATA4* και του *HSP70* (*AMH* promoter).

Συνδυασμένη έκφραση των *DHH* & *SF1* απαιτείται για την ανάπτυξη των κυττάρων Leydig. Το *SF1* ρυθμίζει την γοναδική στεροειδογένεση. Τα κύτταρα Leydig παράγουν τον *INSL3* ο οποίος είναι υπεύθυνος για την κάθοδο των όρχεων στο όσχεο.

## Πίνακας 1. Κατάταξη των 46,XY DSD <sup>1</sup>

### **46XY, DSD λόγω ανωμαλιών στην ανάπτυξη των γονάδων**

Γοναδική αγενεσία

Γοναδική δυσγενεσία, μερική και πλήρη μορφή

Σύνδρομο παλινδρόμησης του εμβρυϊκού όρχεως (Embryonic testicular regression syndrome)

Γοναδική δυσγενεσία στο πλαίσιο συνδρόμου

### **46XY, DSD σχετιζόμενη με διαταραχή στην σύνθεση της χοληστερόλης**

Σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz

### **46XY, DSD λόγω διαταραχών στην έκκριση της Τεστοστερόνης**

Ανεπαρκής διαφοροποίηση κυττάρων Leydig (LHCGR defects) (μερική και πλήρη μορφή)

Ανεπάρκεια των ενζύμων στην σύνθεση της Τεστοστερόνης

Ανεπάρκεια Στεροειδογένεσης επινεφριδίων και όρχεων

Ανεπάρκεια STAR

Ανεπάρκεια P450cc

Ανεπάρκεια 3β-υδροξυστεροειδική αφυδρογονάση τύπου II

Ανεπάρκεια 17α-υδροξυλάση & 17,20 λυάση-δεσμολάση

Τροποποιημένη στεροειδογένεση λόγω διαταραχής στην μεταφορά των ηλεκτρονίων

Ανεπάρκεια P450 αναγωγής

Ανεπάρκεια Κυτοχρώματος b5

Ανεπάρκεια στεροειδογένεσης όρχεων

Μεμονωμένη ανεπάρκεια 17,20 λυάσης-δεσμολάσης

Ανεπάρκεια 3β-υδροξυστεροειδική αφυδρογονάση τύπου III

### **Διαταραχές στον μεταβολισμό της Τεστοστερόνης (Ανεπάρκεια 5α-αναγωγής τύπου II)**

### **Διαταραχές στην δράση των ανδρογόνων**

Σύνδρομο Έλλειψης Ευαισθησίας στα Ανδρογόνα (μερική και πλήρη μορφή)

### **Σύνδρομο Παραμένοντων Πόρων του Muller (Persistence of Müllerian ducts syndrome)**

Ανεπάρκεια σύνθεσης AMH (Αντιμυλλερίου ορμόνης)

Ανεπάρκεια υποδοχέα AMH

### **Συγγενής, μη γενετική 46XY, DSD**

Λήψη ενδοκρινικών διαταρακτών από την έγκυο

Σχετιζόμενη με διαταραγμένη ενδομήτρια ανάπτυξη

### **Ωθηκορχική 46XY, DSD**

### **Μη κλασικές μορφές**

Υποσπαδίας

46 XY διαταραχές της ταυτότητας του φύλου (Male to female transsexualism)

## 46 XY, DSD οφειλόμενες σε ανωμαλίες κατά την ανάπτυξη της γονάδας

### Αγενεσία γονάδας

Η πλήρης απουσία γοναδικού ιστού ή οι ταινιοειδείς γονάδες έχουν περιγραφεί σε άτομα με γονότυπο 46 XY και φαινότυπο θήλεος (έξω & έσω γεννητικά όργανα θήλεος). Στις περιπτώσεις αυτές δεν αναγνωρίζεται διαφοροποίηση γοναδικού ιστού προς δημιουργία όρχεως. Η προέλευση αυτής της διαταραχής παραμένει άγνωστη σε γονιδιακό επίπεδο. Πιθανότατα οφείλετε σε μετάλλαξη των γονιδίων τα οποία ρυθμίζουν την μετατροπή της αρχέγονης διδύναμης γονάδας.

### 46 XY, DSD οφειλόμενες σε δυσγενεσία της γονάδας Πλήρης ή μερική 46XY γοναδική δυσγενεσία

Η γοναδική δυσγενεσία 46XY περιλαμβάνει μια ποικιλία κλινικών μορφών-εκδηλώσεων στις οποίες η μη φυσιολογική ανάπτυξη της εμβρυικής γονάδας είναι είτε πλήρης ή μερική. Στην πλήρη δυσγενεσία των 46XY γονάδων έχουμε φαινότυπο θήλεος (έξω & έσω γεννητικά όργανα θήλεος), απουσία δευτερογενών χαρακτήρων του φύλου, φυσιολογικό ή ψηλό ανάστημα, δίχως σωματικά στίγματα συνδρόμου Turner και παρουσία αμφοτερόπλευρων δυσγενετικών γονάδων. Στην μερική δυσγενεσία έχουμε ατελή διαφοροποίηση του όρχεος με αποτέλεσμα έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου με ή χωρίς ανάπτυξη δομών προερχόμενων από τους πόρους του Muller. Παρόμοιοι φαινότυποι μπορούν να προκύψουν από μωσαϊκισμούς τύπου 45X/46XY.

Η γοναδική δυσγενεσία 46XY όπως προαναφέρθηκε αποτελεί μια ετερογενή διαταραχή, αποτέλεσμα είτε σημειακής μετάλλαξης ή αποκοπής του γονιδίου *SRY* (sex determining region Y). Ο διπλασιασμός μιας περιοχής στο X χρωμόσωμα [dosage sensitive sex (DSS) locus] , στην οποία περιλαμβάνεται το γονίδιο *NR0B1*, προκαλεί την αυξημένη παραγωγή της πρωτεΐνης DAX1 με αποτέλεσμα επίσης την γοναδική δυσγενεσία 46XY. Διαφορετικά αίτια αυτής της δυσγενεσίας έχουν περιγραφεί και σε αυτοσωματικά χρωμοσώματα. Ποσοστό μικρότερο από 20% των ατόμων με πλήρη γοναδική δυσγενεσία 46XY έχει μετάλλαξη στο γονίδιο *SRY* . Έχουν περιγραφεί περισσότερες από 53 μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού, με τις 43 να εντοπίζονται στο HMG box (High Mobility Group Proteins), ενώ κατά κύριο λόγο αποτελούν de novo μεταλλάξεις (δεν έχουν μεταβιβασθεί από γονέα, αποτελούν νέες μεταλλάξεις). Υπάρχουν σπάνιες βιβλιογραφικές αναφορές σύμφωνα με τις οποίες ο πατέρας και το τέκνο με την γοναδική δυσγενεσία φέρουν την ίδια αλληλουχία του μεταλλαγμένου *SRY* γονιδίου<sup>2</sup> .

Σε μία πρόσφατα δημοσιευθείσα μελέτη<sup>3</sup> παρουσιάζεται το γενεαλογικό δένδρο τεσσάρων γενεών, μια οικογενείας στην οποία ανευρέθησαν πολλαπλά πάσχοντα από γοναδική δυσγενεσία μέλη. Η γοναδική δυσγενεσία αφορούσε και στα δύο φύλα και ήταν είτε πλήρης ή μερική. Οι φαινότυποι υποδείκνυαν κληρονομικότητα μέσω του X χρωμοσώματος. Σύμφωνα με αυτή την δημοσίευση, μια γόνιμη μητέρα είχε καρυότυπο 46XY στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος, μωσαϊκισμό (80% 46,XY & 20% 45,X) στους ινοβλάστες του δέρματος και άλλο μωσαϊκισμό (94% 46,XY & 6% 45,X) στην ωοθήκη. Γέννησε ένα παιδί με πλήρη γοναδική δυσγενεσία 46XY και φαινότυπο θήλεος.

Η ποικιλία των φαινοτύπων που παρατηρήθηκαν σε αυτή την οικογένεια προτείνει τον χρωμοσωμικό μωσαϊκισμό σαν μηχανισμό δημιουργίας γοναδικής δυσγενεσίας.

### Σύνδρομο παλινδρόμησης των εμβρυικών όρχεων (Embryonic testicular regression syndrome)

Το σύνδρομο αυτό θεωρείται ως υπότυπος της μερικής γοναδικής δυσγενεσίας. Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών εμφανίζουν έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου ή σοβαρού βαθμού μικροφαλία με συνοδό πλήρη υποστροφή ενός ή και των δύο όρχεων. Οι δυσγενετικοί όρχεις παρουσιάζουν αποδιοργάνωση ως προς τα σπερματικά σωληνάρια, εμφανίζουν ωθηκικό στρώμα χωρίς αρχέγονα γεννητικά κύτταρα και στον πρώτο χρόνο ζωής, στις ταινιοειδείς γονάδες, αναγνωρίζονται αρχέγονα ωθυλάκια<sup>4</sup>. Έχουν αναφερθεί οικογενείς περιπτώσεις με διαφορετικού βαθμού διφυλόμορφα έξω γεννητικά όργανα, ενώ παραμένει άγνωστη η γενεσιουργός αιτία.

### Γοναδική δυσγενεσία στο πλαίσιο ενός συνδρόμου

Υπάρχουν πολλαπλά σύνδρομα στα οποία συνυπάρχει 46XY γοναδική δυσγενεσία. Προκύπτουν από μεταλλάξεις των γονιδίων που εμπλέκονται στην διαφοροποίηση της γονάδας σε όρχι.

#### 46XY DSD οφειλόμενη σε μειωμένη έκφραση του γονιδίου *WT1*

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο (*WT1*) του όγκου Wilm συμμετέχει στην ανάπτυξη των νεφρών και των γονάδων. Οι μεταλλάξεις του οδηγούν στην εμφάνιση βλαβών τόσο στο ουροποιητικό όσο και στις γονάδες. Είναι υπεύθυνες επίσης για τρία σύνδρομα : WAGR, Denys-Drash και Σύνδρομο Frasier.

Το WAGR χαρακτηρίζεται από τον όγκο Wilm, έλλειψη ίριδος, ανωμαλίες ουρογεννητικού συστήματος, παχυσαρκία και νοητική υστέρηση. Αιτία του συνδρόμου αποτελεί η ετερόπλευρη διαγραφή του *WT1* και γειτνιαζόντων γονιδίων όπως το *PAX6*.

Το Denys-Drash σύνδρομο περιλαμβάνει τις δυσγενετικές γονάδες με συνοδό πρώιμη νεφρική ανεπάρκεια και ανάπτυξη όγκου Wilm μόλις στην πρώτη δεκαετία της ζωής. Ανάλογα με τον βαθμό δυσγενεσίας της γονάδας (μερική/πλήρης), ακολουθεί και ο αντίστοιχος φαινότυπος.

Στο Σύνδρομο Frasier παρατηρούνται έξω γεννητικά όργανα θήλεος ή αμφιβόλου φύλου, νεφρική ανεπάρκεια στην 2<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής, ταινιοειδείς γονάδες με αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση γοναδοβλαστώματος.

#### 46XY DSD λόγω μειωμένης έκφρασης του στεροειδογενετικού παράγοντα-1

[steroidogenic factor-1 (*NR5A1/SF1*)]

Ο στεροειδογενετικός παράγοντας-1 (*SF1*) ή Nuclear Receptor Subfamily 5, Group A, Member 1 (*NR5A1*) αποτελεί μέλος της οικογένειας των μεταγραφικών παραγόντων που κωδικοποιούν ορμονικούς υποδοχείς στους πυρήνες των κυττάρων. Η πρώτη αναφορά ασθενή με μετάλλαξη του *NR5A1/SF1* είχε καρυότυπο 46XY, έξω γεννητικά



όργανα θήλεος, υπολείμματα πόρων του Muller και επινεφριδιακή ανεπάρκεια<sup>5</sup>. Έτερη δημοσίευση περιγράφει άτομο με φαινότυπο θήλεος, με κλειτοριδομεγαλία, απουσία δομών από τους πόρους του Muller, ταινιοειδείς γονάδες και φυσιολογική λειτουργία των επινεφριδίων<sup>6</sup>. Πρόσφατη δημοσίευση περιγράφει μετάλλαξη του *SF1* σε δύο νεογνά με καρυότυπο 46XY, έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου και ορμονικό προφίλ που ομοιάζε του συνδρόμου έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (androgen insensitivity syndrome)<sup>7</sup>. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι πρέπει να αναζητείται μετάλλαξη του *SF1* κάθε φορά που διερευνάται ασθενής με 46XY DSD λόγω ανωμαλιών στην ανάπτυξη των γονάδων με ή χωρίς ανεπάρκεια επινεφριδίων.

#### 46XY DSD σχετιζόμενη με καμπτομελική δυσπλασία (campromelic dysplasia) (μειωμένη έκφραση του γονιδίου *SOX9*)

Το γονίδιο *SOX9* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17q, ανήκει στην οικογένεια των γονιδίων HMG, και συμμετέχει στο καθορισμό του φύλου. Ετερόζυγη μεταλλάξη στο γονίδιο *SOX9* προκαλεί σοβαρές σκελετικές ανωμαλίες (καμπτομελική δυσπλασία) και 46XY DSD στο 75% των προσβεβλημένων ασθενών. Τα έξω γεννητικά όργανα αυτών των ατόμων ποικίλουν από φυσιολογικό άρρεν με κρυφορχία έως έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου ή θήλεος.

#### Σπάνια σύνδρομα που σχετίζονται με 46XY DSD λόγω γοναδικής δυσγενεσίας

Μειωμένη έκφραση των γονιδίων *DMRT1* και *DMRT2*, που εντοπίζονται στο 9p24.3, του *ATRX* (X-linked, α-θαλασσαιμία & νοητική υστέρηση) το οποίο εντοπίζεται στο

φυλετικό χρωμόσωμα Xq13 και του γονιδίου *DHH* (Desert hedgehog) εντοπιζόμενο στο χρωμόσωμα 12q12–q13.1, οδηγεί σε δυσγενεσία των όρχεων και συνοδεύεται από άλλοτε άλλα σημεία διαφορετικών συνδρόμων.

#### 46XY DSD λόγω υπερέκφρασης του γονιδίου *DAX1*

Έχουν δημοσιευτεί περιπτώσεις γενετικά αρρένων ατόμων με έξω γεννητικά όργανα θήλεος ή με γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου στα οποία συνυπάρχει ή απουσιάζει νοητική υστέρηση, σχιστίες και δυσμορφικό πρόσωπο. Οι παραπάνω κλινικές εκδηλώσεις έχουν αποδοθεί σε διπλασιασμό τμήματος του χρωμοσώματος Xp στο οποίο συμπεριλαμβάνεται και το γονίδιο *DAX1*. Δεν έχει αποσαφηνισθεί εάν οι φαινοτυπικές αυτές εκδηλώσεις οφείλονται αποκλειστικά στον διπλασιασμό του *DAX1* ή στην έκφραση και άλλων γειτονικών σε αυτό γονιδίων<sup>8</sup>.

#### 46XY DSD λόγω υπερέκφρασης του γονιδίου *WNT4*

Η πρωτεΐνη WNT4 κωδικοποιείται από το αντίστοιχο γονίδιο *WNT4* το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 1. Προάγει την ανάπτυξη του θήλεος και καταστέλλει την διαφοροποίηση του αρρένος. Η υπερέκφραση του γονιδίου αυτού μπορεί να οδηγήσει σε 46XY DSD. Έχει αναφερθεί η περίπτωση ενός 46XY νεογνού με πολλαπλές συγγενείς ανωμαλίες: αμφοτερόπλευρες σχιστίες, ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, μικροκεφαλία, τετραλογία Fallot, αμφιβόλου φύλου έξω και έσω γεννητικά όργανα, γονάδες που δεν είχαν κατέλθει στο όσχεο και αποτελούνταν από το μεσαύλιο του όρχεως και υποπλαστικά σπερματικά σωληνάρια. Στο νεογνό αυτό αναγνωρίστηκε ένας

διπλασιασμός της περιοχής 1p31–p35, στην οποία περιλαμβάνεται το γονίδιο *WNT4*.<sup>9</sup> Η σπανιότητα αυτής της περίπτωσης μέλει να επιβεβαιωθεί και από παρόμοια περιστατικά που θα αναφερθούν στο μέλλον.

## 46XY DSD σχετιζόμενη με διαταραχή στην σύνθεση της χοληστερόλης

### Σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz (SLOS)

Η αιτιολογία του συνδρόμου αυτού είναι στο γονίδιο *DHCR7* το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 11 και συγκεκριμένα 11q12-q13. Στο σύνδρομο αυτό έχουμε χαρακτηριστικό προσωπείο με κοντή μύτη, ανεστραμμένους ρώθωνες, βλεφαρόπτωση, μικροκεφαλία, φωτοευαισθησία, νοητική στέρση, συνδακτυλία 2<sup>ου</sup> και 3<sup>ου</sup> δακτύλου, υποτονικότητα και γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου<sup>10</sup>. Συνυπάρχει ανεπάρκεια επινεφριδίων ή μπορεί να εμφανισθεί στην πορεία της ζωής των ατόμων αυτών. Το 71% των αρρένων φορέων αυτής της μετάλλαξης εμφανίζουν διφυλόμορφα έξω γεννητικά όργανα από απλό υποσπαδία έως έξω γεννητικά όργανα θήλεος παρά τον φυσιολογικό καρυότυπο 46XY και την ύπαρξη του *SRY* γονιδίου. Ανιχνεύονται διάφορες δομές προερχόμενες από τους πόρους του Muller. Παραμένει αδιευκρίνιστη η αιτιολογία της αποτυχίας αρρενοποίησης του SLO συνδρόμου. Η εμφάνιση ασθενών με υπονατριαιμία, υπερκαλιαιμία και μειωμένο λόγο αλδοστερόνης : ρενίνης, υποδηλώνει πως η έλλειψη του υποστρώματος για την παραγωγή των επινεφριδιακών και των γοναδικών στεροειδών οδηγεί σε επινεφριδιακή ανεπάρκεια και διφυλομορφία. Στα προσβεβλημένα παιδιά

μετριόνται χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος και αυξημένα επίπεδα δεϋδρο-χοληστερόλης. Λαμβάνοντας υπόψη τη σχετική υψηλή συχνότητα του συνδρόμου Smith-Lemli-Opitz, περίπου 1 σε 20.000 έως 60.000 γεννήσεις, πρέπει πάντοτε να μετριόνται τουλάχιστον τα επίπεδα χοληστερόλης σε όλα τα άτομα 46XY DSD.

## 46XY DSD σχετιζόμενη με διαταραχή στην σύνθεση της τεστοστερόνης

### 46XY DSD οφειλόμενη σε διαταραχή διαφοροποίησης των Leydig κυττάρων (πλήρης μορφή & μερική)

Η αδυναμία των κυττάρων Leydig να εκκρίνουν τεστοστερόνη οδηγεί σε αποτυχημένη αρρενοποίηση τόσο κατά την ενδομήτριο ζωή όσο και κατά την ενήβωση. Η χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG) και η ωχρινοτρόπος (LH) δρουν με τον ίδιο τρόπο μέσω του υποδοχέα που φέρει την πρωτεΐνη G (G-protein coupled receptor) και η μετάλλαξη του γονιδίου (*LHCGR*) που κωδικοποιεί αυτή την πρωτεΐνη οδηγεί σε υποπλασία των κυττάρων Leydig.

Η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά για 46XY DSD λόγω έλλειψης των κυττάρων Leydig έγινε το 1976 από τον Berthezene και συνεργάτες.<sup>11</sup> Έκτοτε ακολούθησαν πολλαπλές άλλες δημοσιεύσεις και τα χαρακτηριστικά των ατόμων με πλήρη έλλειψη των Leydig κυττάρων συνοψίζονται ως εξής: (i) έξω γεννητικά όργανα θήλεος και ανατροφή ως θήλεα (αποδίδεται το θήλυ φύλο), (ii) απουσία δευτερευόντων χαρακτήρων του φύλου κατά την εφηβεία, (iii) μη κάθοδος των όρχεων οι οποίοι είναι ελαφρώς μικρότεροι του φυσιολογικού μεγέθους, έχουν σπερματικά σωληνάρια αλλά απουσιάζουν τα ώριμα Leydig κύτταρα, (iv) παρουσία υποπλαστικής επιδιδυμίδας και σπερματικού πόρου ενώ

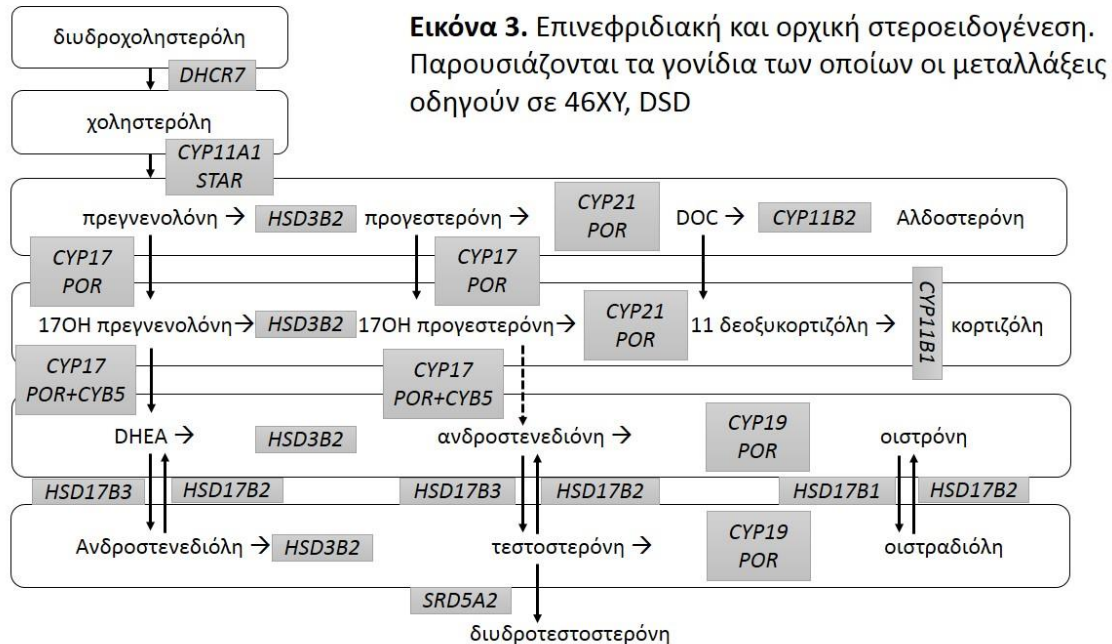
απουσιάζουν η μήτρα και οι ωαγωγοί, (v) χαμηλά επίπεδα T παρά τα υψηλά επίπεδα γοναδοτροφινών, προεξάρχουσα αύξηση της LH έναντι της FSH, (vi) μη ανταπόκριση των όρχεων στη διέγερση με hCG, and (vii) παρά την έλλειψη της T δεν παρατηρείται αυξημένη κυκλοφορία των πρόδρομων ουσιών που μετέχουν στην βιοσύνθεσή της <sup>12</sup>. Έχουν περιγραφεί πολλαπλές διαφορετικές μεταλλάξεις του γονιδίου (*LHCGR*) που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της LH στους ασθενείς με υποπλασία κυττάρων Leydig.

Αντίθετα με τα προαναφερθέντα, τα οποία αφορούν στην πλήρη μορφή της απλασίας των Leydig κυττάρων, η μερική μορφή εμφανίζει μια πλειάδα διαφορετικών φαινοτύπων. Η πλειοψηφία των ασθενών έχει έξω γεννητικά όργανα αρρενος με μικροφαλία και / ή υποσπαδία. Ενίοτε συνυπάρχει κρυπορχία. Κατά την εφηβεία επέρχεται μερική αρρενοποίηση, με φυσιολογικό ή ελαφρώς μειωμένο όγκο όρχεων. Η αύξηση του πέους κατά την ενήβωση, είναι σημαντικά μειωμένη. Δεν συνυπάρχει γυναικομαστία. Η απάντηση σε hCG διέγερση προεφηβικά είναι σχεδόν φυσιολογική χωρίς αύξηση των πρόδρομων ουσιών της T. Αντίθετα κατά την εφηβεία, τα επίπεδα της T κυμαίνονται μεταξύ των προεφηβικών και των τιμών ενηλίκων. Συνυπάρχουν αυξημένα επίπεδα LH. Έχουν αναφερθεί μεταλλάξεις του *LHCGR* γονιδίου και στις περιπτώσεις της υποπλασίας των κυττάρων Leydig <sup>13</sup>.

#### 46XY DSD λόγω ενζυμικής ανεπάρκειας στην βιοσύνθεση της Τεστοστερόνης (T)

Έχουν περιγραφεί τουλάχιστον πέντε διαταραχές ενζύμων που τροποποιούν την σύνθεση της T. Όλες οι ενζυμικές διαταραχές κληρονομούνται με αυτοσωματικό

υπολειπόμενο χαρακτήρα. Τρεις εξ' αυτών σχετίζονται με την σύνθεση της κορτιζόλης και οδηγούν σε Συγγενή Υπερπλασία των Επινεφριδίων (CAH). (Εικόνα 3).



### Διαταραχές σύνθεσης κορτικοστεροειδών και T

Congenital lipoid adrenal hyperplasia. Συγγενής λιποειδική υπερπλασία των επινεφριδίων.

Η αρχική αντίδραση, κατά την βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών, είναι η μετατροπή της χοληστερόλης σε πρεγνενολόνη μέσω αποκοπής της πλευρικής αλυσού της πρώτης. Η αντίδραση αυτή ελέγχει τον ρυθμό παραγωγής των στεροειδών ορμονών και καταλύεται από το κυτόχρωμα P450 το οποίο λέγεται και P450<sub>sc</sub> ή P450<sub>11A</sub> και από την μιτοχονδριακή φωσφοπρωτεΐνη STAR (steroidogenic acute regulatory protein).

## Ανεπάρκεια της πρωτεΐνης STAR.

Η λιποειδική υπερπλασία των επινεφριδίων είναι σπάνια στην Αμερική και τη Ευρώπη αλλά αποτελεί την 2<sup>η</sup> συχνότερη αιτία υπερπλασίας των επινεφριδίων στην Ιαπωνία. Τα προσβεβλημένα άτομα έχουν φαινότυπο θήλεος ή έχουν μια ήπια αρρενοποίηση των έξω γεννητικών οργάνων τους, ανεξαρτήτως από το είδος της γονάδας τους (ωοθήκη ή όρχις). Παρουσιάζουν διόγκωση του φλοιού των επινεφριδίων ο οποίος είναι πλημμυρισμένος από χοληστερόλη και τους εστέρες της, και πάσχουν από σοβαρή ανεπάρκεια των επινεφριδίων. Η νόσος αυτή αρχικά αποδόθηκε σε ανεπάρκεια του P450<sub>scc</sub>, αλλά μέσω μοριακών αναλύσεων διαπιστώθηκαν: α) άθικτο το γονίδιο *P45011A* και β) μεταλλάξεις στο γονίδιο STAR στην πλειοψηφία των πασχόντων<sup>14</sup>.

## Ανεπάρκεια του P450<sub>scc</sub>

Το P450<sub>scc</sub> (κυτόχρωμα P450) είναι υπεύθυνο για την πλακουντιακή βιοσύνθεση της προγεστερόνης, και αυτή με την σειρά της υπεύθυνη για την διατήρηση της κύησης. Λόγω των ανωτέρω είχε διατυπωθεί η άποψη ότι η μετάλλαξη του *CYP11A* δεν θα είναι συμβατή με την τελειόμηνη κύηση. Η ανεύρεση περιπτώσεων συγγενούς λιποειδικής επινεφριδιακής υπερπλασίας με φυσιολογικά τα γονίδια *STAR* & *SF1* οδήγησε στην ανίχνευση μεταλλάξεων και στο γονίδιο *CYP11A*<sup>15</sup>. Η ανεπάρκεια του P450<sub>scc</sub> οδηγεί σε πολλαπλούς διαφορετικούς φαινότυπους, από προωρότητα, πλήρη αναστολή αρρενοποίησης και σοβαρή ανεπάρκεια επινεφριδίων έως τελειόμηνα νεογνά με ήπια αρρενοποίηση και μεταγενέστερη έναρξη της ανεπάρκειας των επινεφριδίων.

## Ανεπάρκεια της 3β-υδροξυστεροειδικής αφυδρογονάσης (3β-HSD) τύπου II.

Οι άρρενες ασθενείς με ανεπάρκεια 3β-HSD τύπου II εμφανίζουν έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου, και πιο συγκεκριμένα μικροφαλία, περινεϊκό υποσπαδία, διαχωρισμένο όσχεο και τυφλό εντύπωμα κόλπου. Επίσης συνδυάζεται με απώλεια άλατος. Έχουν δημοσιευτεί πολλαπλές μεταλλάξεις του γονιδίου *HSD3b2* που κωδικοποιεί την 3β-HSD τύπου II. Στην πλήρη ανεπάρκεια του ενζύμου έχουμε CAH με σοβαρή απώλεια άλατος ενώ στις περιπτώσεις υπολειπόμενης λειτουργίας του ενζύμου εκδηλώνεται CAH με ήπια ή καθόλου απώλεια άλατος. Τα άρρενα άτομα εμφανίζουν 46XY DSD, συνήθως τους αποδίδεται το άρρεν φύλο κατά την γέννηση και διατηρούν το άρρεν φύλο και στην εφηβεία. Όσα άρρενα άτομα έχουν 46XY DSD λόγω 3β-HSD τύπου II, αλλά δεν εμφανίζουν απώλεια άλατος, έχουν παρόμοια κλινικά χαρακτηριστικά με τα άτομα που έχουν ανεπάρκεια είτε της 17β-HSD3 ή της 5α-RD2.

## Ανεπάρκεια της P450c17 (17-υδροξυλάση και 17-20 λυάση)

Το στεροειδογενετικό ένζυμο CYP17 έχει δύο δράσεις: α) υδροξυλάση της προγενολόνης και της προγεστερόνης προς 17α-υδροξυπρογενολόνη και 17α-υδροξυπρογεστερόνη αντίστοιχα και β) λυάση στην θέση 17-20 με αποτέλεσμα η 17α-υδροξυπρογενολόνη να μετατρέπεται σε δεϋδροεπιανδροστερόνη και η 17α-προγεστερόνη σε ανδροστενεδιόνη. Το ένζυμο αυτό βρίσκεται στον φλοιό των επινεφριδίων στις *zona fasciculata* και *zona reticularis* και στις γονάδες. Η ρύθμιση της δράσης της CYP17 γίνεται στο κυτόχρωμα β5. Τα έξω γεννητικά όργανα των αρρένων με ανεπάρκεια 17-υδροξυλάσης είναι συνήθως θήλεος ή ήπια αρρενοποιημένα με τυφλό



κολπικό εντύπωμα, κρυφορχία, υπέρταση και συνηθέστερα υποκαλιαιμία. Οι ασθενείς αυτοί, παρότι δεν συνθέτουν κορτιζόλη, δεν εμφανίζουν εικόνα ανεπάρκειας γλυκοκορτικοειδών, διότι έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις κορτικοστερόνης η οποία έχει γλυκοκορτικοειδή δράση.

Στους άρρενες ασθενείς με ανεπάρκεια CYP17 συνηθέστερα αποδίδεται το θήλυ φύλο. Η διάγνωση τίθεται στην εφηβεία στο πλαίσιο διερεύνησης πρωτοπαθούς αμηνόρροιας με απουσία ανάπτυξης μαστού. Ο φαινότυπος είναι παρόμοιος με αυτόν που έχουν τα 46XX ή 46XY με πλήρη γοναδική δυσγενεσία. Η διάγνωση της ανεπάρκειας 17α-υδροξυλάσης τίθεται όταν συνυπάρχει υπέρταση και απουσία τρίχωσης εφηβαίου στα πρώτα μετεφηβικά έτη<sup>1</sup>.

Το γονίδιο *CYP17* εδράζεται στο χρωμόσωμα 10q24.3 και έχουν αναγνωρισθεί πολλαπλές μεταλλάξεις του<sup>16</sup>.

### Διαταραχή της στεροειδογένεσης στο όρχι

#### Ανεπάρκεια του ενζύμου P450c17 (δράση 17,20 λυάσης)

Δημοσιεύτηκε πρώτη φορά σε 2 άτομα με 46XY DSD και αποδείχθηκε μεμονωμένη ανεπάρκεια της λυάσης λόγω ομόζυγης μετάλλαξης του γονιδίου *CYP17*.

#### 46XY DSD λόγω ανεπάρκειας του ενζύμου 17β-HSD τύπου III.

Το γονίδιο *HSD17B3* κωδικοποιεί το προαναφερθέν ισοένζυμο και η μετάλλαξή του προκαλεί 46XY DSD.<sup>17</sup> Οι ασθενείς αυτοί κατά την γέννηση έχουν γεννητικά όργανα

θήλεος ή αμφιβόλου φύλου με ένα κολπικό εντύπωμα. Οι όρχεις βρίσκονται ενδοπεριτοναϊκά ή στους βουβωνικούς πόρους. Παλαιότερα ανατρέφονταν σαν θήλεα στην παιδική ηλικία αλλά ενεφάνιζαν συμπεριφορά άρρενος κατά την εφηβεία. Αυτό εξηγείται λόγω της αρρενοποίησης που επέρχεται στην εφηβεία. Είναι δύσκολη η διαφοροδιάγνωση από το σύνδρομο μερικής έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα [partial androgen insensitivity syndrome (PAIS)].

#### Τροποποιημένη στεροειδογένεση λόγω διαταραχής των πρωτεϊνών φορέων ηλεκτρονίων

Έχουν περιγραφεί διαταραχές της στεροειδογένεσης λόγω τροποποιημένης λειτουργίας των πρωτεϊνών που χορηγούν ηλεκτρόνια κατά τις αντιδράσεις αυτές. Οι δυο δημοφιλέστερες είναι: α) η ανεπάρκεια της οξειδοαναγωγάσης P450 (P450 oxidoreductase = POR) ή αλλιώς του κυτοχρώματος P450 και β) η ανεπάρκεια του κυτοχρώματος β5.<sup>1</sup>

#### 46,XY DSD λόγω διαταραχής του μεταβολισμού της Τεστοστερόνης

##### Ανεπάρκεια της 5α-αναγωγάσης τύπου II (5RD2)

Η μετάλλαξη του γονιδίου *SRD5A2* που εδράζεται στο χρωμόσωμα 2p23, και τροποποιεί την λειτουργία της 5α-αναγωγάσης τύπου II, έχει σαν αποτέλεσμα τα άρρενα νεογνά να έχουν διαταραχή της ανάπτυξης του φύλου (46XY DSD).

Τα άτομα που εμφανίζουν αυτή την ενζυμική διαταραχή γεννιούνται με έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου, μικροφαλία, φυσιολογικά έσω γεννητικά όργανα άρρενος, υποπλαστικό προστάτη και όρχεις με φυσιολογική ή ελαττωμένη σπερματογένεση. Η τρίχωση του προσώπου και του σώματος είναι αραιή ενώ απουσιάζουν η ακμή και η μόνιμη ανδρικού τύπου αλωπεκία (φαλάκρα). Οι όρχεις συνήθως εντοπίζονται στους βουβωνικούς πόρους και αυτό υποδηλώνει ότι η κάθοδός τους εξαρτάται από την δράση της διυδροτεστοστερόνης (DHT). Κατά την εφηβεία επέρχεται αρρενοποίηση χωρίς σοβαρή συνοδό γυναικομαστία. Στην διαφοροδιάγνωση περιλαμβάνονται η ανεπάρκεια της 17β-HSD τύπου III και του PAIS αν και τα δύο αυτά εμφανίζουν γυναικομαστία.

Συνηθέστερα στους ασθενείς αυτούς αποδιδόταν το γυναικείο φύλο λόγω της ατελούς αρρενοποίησης των έξω γεννητικών οργάνων. Όσοι ασθενείς δεν υπεβλήθησαν σε εκτομή όρχεων κατά την παιδική ηλικία, ζητούν και αλλάζουν το κοινωνικό φύλο τους από θήλυ σε άρρεν κατά την εφηβεία. Σε μια πρόσφατη δημοσίευση των Costa και συν.<sup>18</sup> αναφέρονται 30 περιπτώσεις 46XY DSD λόγω 5α-αναγωγάσης τύπου II προερχόμενες από 18 οικογένειες. Στους 28 από τους 30 αποδόθηκε το θήλυ φύλο κατά την γέννηση ενώ στους 2 εναπομείναντες αποδόθηκε εξ αρχής το άρρεν φύλο. Η πρώτη περίπτωση ορθής απόδοσης φύλου έγινε διότι ένας θείος του νεογνού είχε το ίδιο πρόβλημα ενώ στην δεύτερη περίπτωση η διάγνωση της ανεπάρκειας της 5α-αναγωγάσης τύπου II προηγήθηκε της χορήγησης κοινωνικού φύλου. Από τους ίδιους συγγραφείς αναφέρεται ότι ποσοστό 60% των ατόμων στους οποίους διατηρήθηκαν οι όρχεις, ζήτησαν επαναπροσδιορισμό φύλου από θήλυ σε άρρεν. Επίσης διατύπωσαν την άποψη ότι η

μικροφαλία δεν ήταν αιτία ατελούς ικανοποίησης. Στα συμπεράσματά τους υπογραμμίζουν ότι κάθε φορά που έχουμε ένα νεογνό με 46XY DSD και φυσιολογικά επίπεδα T άρρενος, στην διαφορική διάγνωση πρέπει να περιλαμβάνεται η ανεπάρκεια της 5α-αναγωγάσης τύπου II. Επίσης δεν πρέπει να εκτελείται οποιαδήποτε χειρουργική παρέμβαση ούτε να αποδίδεται κοινωνικό φύλο πριν την τελική διάγνωση <sup>18</sup>.

### 46XY DSD λόγω διαταραχής στην δράση των ανδρογόνων

Το σύνδρομο έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (Androgen Insensitivity Syndrome = AIS) διαχωρίζεται σε 2 τουλάχιστον μορφές. Στην πλήρη έλλειψη ευαισθησίας στα ανδρογόνα (Complete Androgen Insensitivity Syndrome=CAIS) και στην μερική έλλειψη ευαισθησίας (Partial Androgen Insensitivity Syndrome=PAIS) στην οποία επισυμβαίνει διαφόρων βαθμών διαταραχή στην δράση των ανδρογόνων. Κάθε φορά που το χρωμοσωμικό φύλο 46 XY (αποτέλεσμα αμνιοπαρακέντησης) είναι σε ασυμφωνία με το διαφαινόμενο από τους προγεννητικούς υπερήχους θήλυ φύλο τότε εγείρεται προγεννητικά η υπόνοια CAIS. Στην παιδική ηλικία η ανεύρεση άμφω βουβωνοκηλών με ύπαρξη όρχεων εντός αυτών, επίσης θέτει την διάγνωση CAIS. Κατά την εφηβεία η πρωτοπαθής αμηνόρροια ταυτόχρονα με πλήρως ανεπτυγμένους μαστούς, αραιή ή καθόλου τρίχωση μασχάλης και εφηβαίου θέτει το CAIS στην κορυφή της διαφοροδιαγνωστικής διερεύνησης. Το CAIS έχει σαφέστατη κλινική εικόνα και είναι

απόλυτα ομοιόμορφο. Αντίθετα το PAIS εκφράζεται με μια ποικιλία φαινοτύπων και αποτελεί δυσεπίλυτο διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα.

Το γονίδιο (*AR*) που κωδικοποιεί τον υποδοχέα των ανδρογόνων εντοπίζεται στο φυλετικό χρωμόσωμα Xq11-12. Μεταλλάξεις στο γονίδιο *AR* ανακαλύπτονται στην πλειοψηφία των ατόμων με CAIS και σε πολλούς με PAIS. Μια βάση δεδομένων στην οποία ανακοινώνονται οι μεταλλάξεις του *AR* είναι η <http://androgendb.mcgill.ca/> . Οι μεταλλάξεις αυτές μεταβιβάζονται μέσω του X χρωμοσώματος με υπολειπόμενο χαρακτήρα (φυλοσύνδετος υπολειπόμενος χαρακτήρας) στο 70% των περιπτώσεων. Το υπόλοιπο 30% των περιπτώσεων είναι αποτέλεσμα de novo μεταλλάξεων. Η λειτουργία του *AR* δεν εξαρτάται αποκλειστικά από την δομή του αλλά και από την ύπαρξη κάποιου συν-ενεργοποιητή του<sup>19</sup>. Ορισμένες δημοσιεύσεις προσδίδουν στην πρωτεΐνη FKBP52 ένα ρόλο συνοδού στον *AR* προκειμένου ο τελευταίος να λειτουργήσει σωστά <sup>20</sup>.

Οι ασθενείς με CAIS συνηθέστερα μεγαλώνουν ως θήλεα και διατηρούν το θήλυ φύλο κατά την εφηβεία και την ενήλικη ζωή. Σε όσους ασθενείς με PAIS αποδοθεί το θήλυ φύλο κατά την νεογνική περίοδο, αυτοί συνηθέστερα το διατηρούν παρά τα σημεία αρρενοποίησης της εφηβείας όπως η διόγκωση του μικρού φαλού. Όπως προαναφέρθηκε αυτό δεν συμβαίνει στους ασθενείς με ανεπάρκεια της 5α-αναγωγασης τύπου II και σε αυτούς με ανεπάρκεια 17β-υδροξυστεροειδικής αφυδρογονάσης τύπου III. Στην εφηβεία των θήλεων αυτών συχνά αναζητείται ο επαναπροσδιορισμός του φύλου από θήλυ προς άρρεν. Μια πιθανή ερμηνεία για αυτή την διαφορά είναι ότι η διαταραχή στην δράση των ανδρογόνων στις ασθενείς με PAIS παραμένει αμετάβλητη στην εμβρυϊκή περίοδο και στην εφηβεία. Αντίθετα στις ασθενείς με τις άλλες ενζυμικές ανεπάρκειες κατά την

εφηβεία επυσομβαίνει εντονότερη ανδρογονική δράση είτε λόγω αυξημένης παραγωγής ανδρογόνων από εναλλακτικές οδούς ή λόγω ωρίμανσης ισοενζύμων τους.

## Σύνδρομο παραμενόντων πόρων του Muller (Persistent Mullerian Duct Syndrome = PMDS)

Ανεπάρκεια σύνθεσης της Αντι-Μυλλερίου Ορμόνης (AMH)

Ανεπάρκεια του υποδοχέα της AMH τύπου II.

Η ανεύρεση γυναικείων έσω γεννητικών οργάνων σε άρρενα άτομα οφείλεται στην αδυναμία των κυττάρων Sertoli είτε να συνθέσουν ή να εκκρίνουν βιοδραστική AMH. Εναλλακτική παθογενετική οδό αποτελεί η διαταραχή του υποδοχέα της AMH. Το σύνδρομο (PMDS) αυτό μπορεί να προκύψει είτε από μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί την AMH ή από μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της AMH. Και οι δύο αυτές διαταραχές έχουν το ίδιο αποτέλεσμα και αναφέρονται σαν τύπου I και τύπου II PMDS αντίστοιχα.

Το γονίδιο *AMH* εδράζεται στο χρωμόσωμα 19p13.3 και η πρωτεΐνη που παράγει δρα στον υποδοχέα τύπου 2 (*AMHR2*). Οι πάσχοντες ασθενείς έχουν άρρενα φαινότυπο, βουνωνοκήλες αμφοτερόπλευρα και κρυφορχία. Η αζωοσπερμία που παρατηρείται οφείλεται είτε σε δυσμορφία του σπερματικού πόρου ή σε αγενεσία της επιδιδυμίδας, παρότι τα κύτταρα Leydig παραμένουν λειτουργικά. Το 85% των περιπτώσεων PMDS οφείλεται σε μεταλλάξεις των δύο γονιδίων *AMH* και *AMHR2*<sup>21</sup>.

## Συγγενής, μη γενετική 46XY DSD

Λήψη ενδοκρινικών διαταρακτών από την έγκυο.

Η χρήση συνθετικής προγεστερόνης ή αναλόγων της, κατά την διάρκεια της κύησης, έχει ενοχοποιηθεί στην αιτιολογία της 46XY DSD. Δύο παθογενετικοί μηχανισμοί έχουν πιθανολογηθεί: α) η προγεστερόνη καταστέλλει την παραγωγή τεστοστερόνης από τους εμβρυικούς όρχεις και β) η μειωμένη μετατροπή T σε DHT λόγω ανταγωνιστικής δράσης της προγεστερόνης.

Η δράση των εξωγενώς προσλαμβανόμενων οιστρογόνων στην αιτιολογία της 46XY DSD δεν έχει τεκμηριωθεί μέχρι σήμερα. Σε επίπεδο πειραματοζώων έχει δημοσιευτεί η εμφάνιση υποσπαδία στο 41% των ποντικών που εκτέθηκαν σε μυκητοκτόνο (vinclozolin) σε συνδυασμό με ή χωρίς ένα φυτοοιστρογόνο παράγωγο της σόγιας<sup>22</sup>.

## Συγγενής μη γενετική 46XY DSD σχετιζόμενη με διαταραγμένη ενδομήτρια ανάπτυξη

Παρά τα πολλαπλά γενετικά αίτια που προκαλούν 46XY DSD, το 30-40% των περιπτώσεων παραμένουν αδιάγνωστα. Μια σειρά περιπτώσεων μη γενετικών 46XY DSD χαρακτηρίζονται από μειωμένη ενδομήτρια ανάπτυξη και απουσία συνοδών ανωμαλιών ή διαταραχών στην στεροειδογένεση. Το 30% των αδιευκρίνιστων περιπτώσεων 46XY DSD σχετίζονται με χαμηλό βάρος γέννησης και αυτό υποδηλώνει ότι οι ανεπιθύμητες ενέργειες κατά τις πρώτες εβδομάδες της κύησης είναι συχνές αιτίες συγγενούς μη γενετικής 46XY DSD<sup>23</sup>.

## Ωοθηκορχική 46XY, DSD

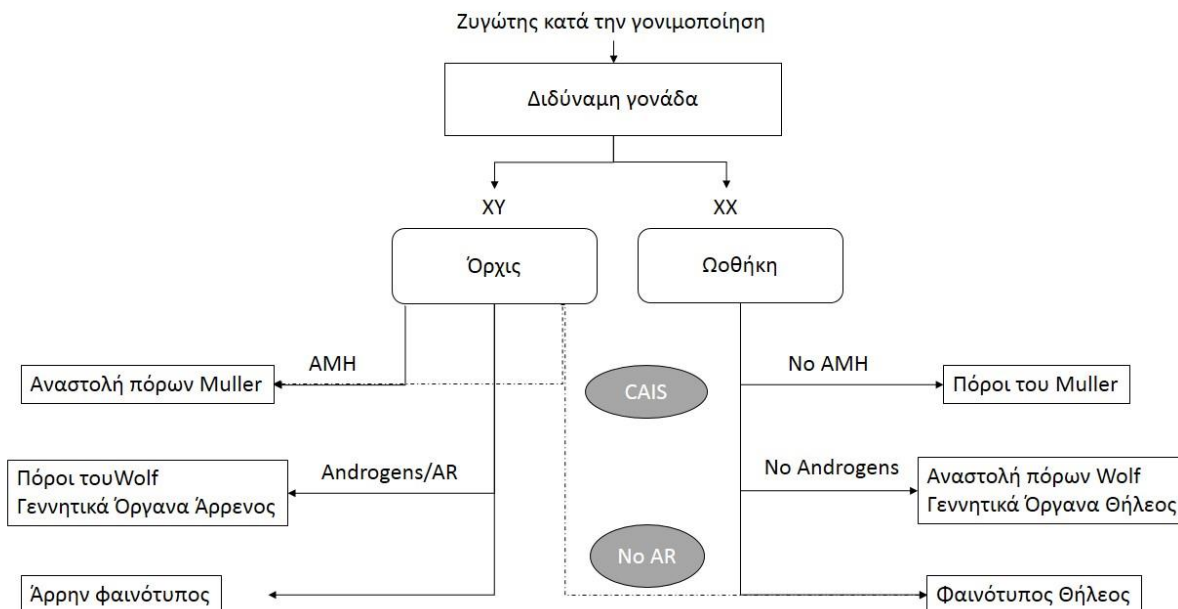
Υπάρχουν σπάνιες βιβλιογραφικές αναφορές ασθενών με 46XY, DSD στους οποίους η βιοψία των γονάδων τους ανέδειξε συνύπαρξη ορχικού ιστού με ωοθηκικό ιστό στον οποίο ανιχνεύονται αρχέγονα ωοθυλάκια <sup>24</sup>. Η ωοθηκορχική 46XY, DSD πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από την μερική μορφή της 46XY γοναδικής δυσγενεσίας. Στην μερική μορφή της γοναδικής δυσγενεσίας οι δυσγενετικοί όρχεις εμφανίζουν διαταραγμένη αρχιτεκτονική των σπερματικών σωληναρίων και ωοθηκικό στρώμα με σπάνια αρχέγονα ωοθυλάκια στο πρώτο έτος της ζωής.



## ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΛΜΕΙΨΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΝΔΡΟΓΟΝΑ (Androgen Insensitivity Syndrome = AIS)

Το AIS στην πλήρη μορφή του αποτελεί μια διαταραχή τύπου αντίστασης στην ορμονική δράση. Χαρακτηρίζεται από φαινότυπο θήλεος με καρυότυπο 46XY και όρχεις που παράγουν φυσιολογικές για την ηλικία ποσότητες ανδρογόνων. Προκύπτει μετά από μετάλλαξη του ανδρογονικού υποδοχέα (AR) στο X χρωμόσωμα. Το γονίδιο *AR* κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα, μέλος της μεγάλης ομάδας των πυρηνικών υποδοχέων, ο οποίος ενεργοποιείται μετά από σύνδεση (ligand-activated)

Υπάρχουν πολλαπλές κλινικές διαταραχές οι οποίες προκύπτουν λόγω μερικής ή πλήρους αντίστασης στην δράση των ορμονών. Παραδείγματα αποτελούν ο διαβήτης λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη και οι διαταραχές της αναπαραγωγής λόγω αντίστασης στις γοναδοτροφίνες ή στις στεροειδείς ορμόνες <sup>25</sup>. Κατά την εμβρυική περίοδο η ανάπτυξη του αρρενος εμβρύου προκύπτει όταν ο ζυγώτης XY μετατρέπει την διδύναμη γονάδα σε όρχι (καθορισμός του φύλου). Ακολουθεί η παραγωγή της T και της AMH από τον όρχι, οι οποίες με την σειρά τους προκαλούν τον φαινότυπο του αρρενος (διαφοροποίηση του φύλου). Στην εικόνα 4 παρουσιάζεται απλοποιημένα ο καθορισμός και η διαφοροποίηση του φύλου καθώς και ο παθογενετικός μηχανισμός που οδηγεί στο CAIS, ένα σύνδρομο τύπου-αντίστασης.



**Εικόνα 4.** Απλοποιημένο σχήμα ανάπτυξης του φύλου

AR=Ανδρογονικοί υποδοχείς, CAIS=Σύνδρομο πλήρους έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα, AMH=Αντιμυλλέριος Ορμόνη

Το σύνδρομο CAIS πρωτοπεριγράφηκε από τον John Morris το 1958<sup>26</sup>. Περιέγραψε 82 ασθενείς με φαινότυπο θήλεος και αμφοτερόπλευρους όρχεις. Θεώρησε ότι από τους όρχεις αυτούς εκλυόταν κάποια ορμόνη με οιστρογονική δράση για αυτό και ονομάτισε το σύνδρομο αυτό "Θηλεοποιητικού Όρχεως". Η αντιφατική αυτή ονομασία αντικαταστάθηκε από την επικρατούσα σήμερα CAIS.

Ο όρος partial androgen insensitivity syndrome (PAIS), χρησιμοποιείται για να περιγράψει έναν φαινότυπο με ποικίλου βαθμού αρρενοποίηση των έξω γεννητικών οργάνων λόγω μερικής δράσης των ανδρογόνων. Επίσης ο όρος MAIS (mild androgen

insensitivity syndrome) αποδίδετε στις μέρες μας σε άρρενα άτομα με γυναικομαστία ή υπογονιμότητα στην ενήλικη ζωή τους. Από όλα τα παραπάνω καταδεικνύεται ότι το σύνδρομο έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (AIS) προκύπτει λόγω μερικής ή πλήρους αντίστασης στην δράση των ανδρογόνων σε άρρενα άτομα με φυσιολογικούς όρχεις που εκκρίνουν ανδρογόνα στις κατάλληλες για την ηλικία τους δόσολογία. Η παθοφυσιολογία του συνδρόμου αυτού βασίζεται στους μηχανισμούς δράσης των ανδρογόνων.

### Σύνδρομο πλήρους έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (CAIS)

Το CAIS διαγιγνώσκεται στο πλαίσιο διερεύνησης πρωτοπαθούς αμηνόρροιας στην εφηβεία ή κατά την βρεφική περίοδο όταν διαπιστωθούν βουβωνοκήλες. Οι έφηβες κοπέλες με αυτή την διαταραχή παρουσιάζουν φυσιολογική ανάπτυξη μαστού και φυσιολογική επιτάχυνση της αύξησης του ύψους αλλά όχι εμμηνορυσία. Τα οιστρογόνο-εξαρτώμενα δευτερεύοντα χαρακτηριστικά του φύλου προκύπτουν μέσω της περίσσειας των ανδρογόνων τα οποία αρωματοποιούνται στην περιφέρεια. Η τρίχωση της μασχάλης και του εφηβαίου συνηθέστερα είναι απύσχα ενώ σπάνια παρατηρείται αραιή (τρίχωση). Δεν υπάρχουν διαθέσιμα ακριβή αριθμητικά στοιχεία για την επίπτωση του CAIS. Η συχνότητα έχει υπολογισθεί μεταξύ 1:20.400 και 1:99.100 γεννήσεις γενετικά άρρενων ατόμων, βάσει αποδεδειγμένων μοριακών διαγνώσεων <sup>27</sup>.

Η διάγνωση του CAIS στην βρεφική περίοδο τίθεται κατά την διερεύνηση βουβωνοκήλης με ψηλαφητό μόρφωμα εντός αυτής. Η βιοψία του μορφώματος αυτού αποδεικνύει την παρουσία ορχικού ιστού σε ένα φαινοτυπικά θήλυ βρέφος. Ο καρυότυπος του βρέφους επιβεβαιώνει την διάγνωση. Η παρουσία αμφοτερόπλευρης βουβωνοκήλης

σε ένα θήλυ βρέφος είναι εξαιρετικά σπάνια και εξ αυτών των βρεφών, το 1-2% έχουν CAIS <sup>28</sup>. Εναλλακτικά κατά την προεφηβική περίοδο όταν μια ασθενής υποβάλλεται σε πλαστική βουβωνοκήλης γίνεται ταυτόχρονα διερεύνηση του βάθους του κόλπου. Βραχύ μήκος κόλπου, απουσία ωοθηκών και μήτρας, υποδεικνύουν την ανάγκη διενέργειας καρυοτύπου. Τα κύτταρα Sertoli του εμβρυικού όρχεως έχουν εκκρίνει φυσιολογικές ποσότητες AMH με αποτέλεσμα να έχει ανασταλεί η ανάπτυξη των πόρων του Muller προς μήτρα, σάλπιγγες και άνω δυο τρίτα του κόλπου κατά την εμβρυική φάση της διαφοροποίησης του φύλου. Το μήκος του κόλπου στο CAIS ποικίλει από ένα απλό περινεϊκό εντύπωμα έως φυσιολογικό μήκος κόλπου αλλά με τυφλό πέρας. Σε πρόσφατη ανασκόπηση αναφέρεται ότι οι μεγαλύτερες αδελφές ασθενών με CAIS οι οποίες χειρουργήθηκαν στην παιδική ηλικία για βουβωνοκήλη μπορεί να έχουν επίσης καρυότυπο 46XY <sup>29</sup>.

Η διάγνωση του CAIS μπορεί να τεθεί πρώιμα, κατά την διάρκεια της κύησης ή αμέσως μετά την γέννηση. Πολλές φορές το φύλο του εμβρύου καθορίζεται από την βιοψία χοριακών λαχνών, την αμνιοπαρακέντηση ή την απομόνωση εμβρυικού DNA από το αίμα της εγκύου μητέρας. Κάθε φορά που το χρωμοσωμικό φύλο δεν συμφωνεί με τον φαινότυπο είτε μέσω υπερήχων ή κατά την γέννηση, τότε τίθεται στην διαφοροδιάγνωση και το CAIS. Σε άλλες περιπτώσεις διαγιγνώσκεται λόγω συγγενικού προσώπου με CAIS που κληρονομείται με χρωμοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα (X-linked) ή όταν διαγιγνώσκεται μια πυελική μάζα προερχόμενη από γοναδικό όγκο.

Οι ασθενείς με CAIS έχουν μέσο ανάστημα υψηλότερο από τον γυναικείο πληθυσμό αλλά χαμηλότερο από το αντίστοιχο μέσο ανάστημα του ανδρικού πληθυσμού<sup>30</sup>. Οι

ασθενείς που καθυστερούν να υποβληθούν σε γοναδεκτομή μέχρι και μετά την εφηβεία έχουν υψηλότερο ανάστημα από τις αντίστοιχες ασθενείς με πρόωμη γοναδεκτομή. Το τελευταίο εύρημα υπαινίσσεται μια ένδεια οιστρογόνων προ της γοναδεκτομής. Δεν έχει αποδειχθεί ότι οι ασθενείς με CAIS ξεκινούν την ενήβωση αργότερα από τις φυσιολογικές κοπέλες. Πιστεύεται ότι το υψηλότερο ανάστημα των CAIS οφείλεται σε αλληλουχίες γονιδίων που εντοπίζονται στα μακρύ σκέλος του Y χρωμοσώματος. Έχουν εντοπισθεί πολλαπλές αλληλουχίες με επίδραση στο ύψος. Τα νεογνά με CAIS έχουν μέσο ύψος ανάλογο με των αρρένων νεογνών. Από αυτό συνάγεται το συμπέρασμα ότι οι περιοχές του Y χρωμοσώματος και όχι η έκθεση σε ανδρογόνα κατά την ενδομήτρια ζωή αποτελούν τον καθοριστικό παράγοντα για το ύψος γέννησης.

Οι ασθενείς με CAIS και άθικτες γονάδες έχουν την ενδοκρινολογική εικόνα ασθενών με ένα σύνδρομο-αντίστασης. Οι συγκεντρώσεις της T πλάσματος είναι εντός φυσιολογικών ορίων ή αυξημένες σε σχέση με τις αντίστοιχες των αγοριών ή των ενηλίκων ανδρών, και οι συγκεντρώσεις της LH (ωχρινότροπου ορμόνης) είναι υπερβολικά αυξημένες. Σε φυσιολογικά επίπεδα κυμαίνονται οι FSH και η ινχιμπίνη. Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων στις ασθενείς με CAIS, είναι υψηλότερα από τα αντίστοιχα των φυσιολογικών ανδρών αλλά χαμηλότερα από αυτά των φυσιολογικών γυναικών. Τα οιστρογόνα αυτά προέρχονται: α) από την αρωματοποίηση των κυκλοφορούντων ανδρογόνων προς οιστρογόνα και β) από την απ' ευθείας παραγωγή οιστρογόνων από τους όρχεις, η οποία επάγεται από την αυξημένη δράση της LH. Οι συγκεντρώσεις των γοναδοτροφινών αυξάνουν περεταίρω μετά την γοναδεκτομή, αλλά καταστέλλονται εν μέρει από την λήψη υποκατάστασης. Αυτά τα ευρήματα καταδεικνύουν μια αντίσταση

των υποθαλάμου-υπόφυσης να καταστείλουν την έκκριση των γοναδοτροφινών από το αρνητικό feedback (παλίνδρομη αλληλορύθμιση) των ανδρογόνων στις ασθενείς με CAIS. Παραμένει μια μερική αρνητική παλίνδρομη αλληλορύθμιση των υποθαλάμου-υπόφυσης από τα λαμβανόμενα οιστρογόνα. Η SHBG (Sex Hormone Binding Globulin) αυξάνεται από τα οιστρογόνα, ενώ τα ανδρογόνα καταστέλλουν την ηπατική παραγωγή της. Οι συγκεντρώσεις της SHBG στις ασθενείς με CAIS ακολουθούν το μοντέλο των υγιών γυναικών και δεν μειώνονται περαιτέρω μετά από λήψη ανδρογόνων<sup>31</sup>. Τα επίπεδα Ινχιμπίνης Β και AMH είναι αυξημένα στις ασθενείς με AIS και σχετίζονται με την ποσότητα του λειτουργικού γοναδικού ιστού.<sup>32</sup>

Κατά την βρεφική περίοδο, στο CAIS, δεν παρατηρείται αυτή η έντονη εικόνα συνδρόμου-αντίστασης στις συγκεντρώσεις των ανδρογόνων και των γοναδοτροφινών. Οι επαγόμενες από την LH συγκεντρώσεις της Τ πλάσματος αυξάνονται σημαντικά και το φαινόμενο αυτό καλείται μίνι-ενήβωση<sup>33</sup>. Η συγκέντρωση της Τ πλάσματος αυξάνεται μετά από χορήγηση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης αλλά αυτή η αντίδραση δεν είναι ικανή για να τεθεί η διάγνωση του CAIS στα βρέφη. Τα βρέφη με PAIS εμφανίζουν μια αναλογικότερη συσχέτιση στις βασικές συγκεντρώσεις Τ και LH, καθώς και μια πιο αρμονική ανταπόκριση – απάντηση μετά από χορήγηση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG). Το τεστ διέγερσης με hCG αποτελεί διαγνωστικό μέσο για αποκλεισμό άλλων αιτιών 46XY DSD με θήλυ φαινότυπο.

Η χαμηλή στάθμη Τ στα βρέφη με CAIS δεν είναι απόλυτα ερμηνεύσιμη αλλά μπορεί να υποδηλώνει ότι τα ανδρογόνα δρουν προγεννητικά και καταστέλλουν τον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση προκειμένου να προληφθεί η αύξηση της LH αμέσως μετά την

γέννηση. Τα επίπεδα AMH πλάσματος στις ασθενείς με CAIS υποδηλώνουν την ύπαρξη ορχικού ιστού, και τα επίπεδα αυτά είναι υψηλότερα (στα πάσχοντα βρέφη) από τα φυσιολογικά άρρενα βρέφη<sup>34</sup>. Οι συγκεντρώσεις της T και της AMH μεταβάλλονται αντιστρόφως κατά την εφηβεία. Αυτό δεν συμβαίνει στην βρεφική περίοδο κατά την μινι-ενήβωση. Η παραπάνω διαφορά μεταξύ βρεφικής μινι-ενήβωσης και της ήβης παρατηρείται λόγω μη έκφρασης ανδρογονικών υποδοχέων στα κύτταρα Sertoli του νεογνικού όρχεως. Προκύπτει έτσι μια παροδική έλλειψη ευαισθησίας στα ανδρογόνα των κυττάρων Sertoli κατά την εμβρυική και νεογνική περίοδο ανάπτυξης των όρχεων<sup>35</sup>. Αυτή η έλλειψη ευαισθησίας είναι πολλαπλάσια στα βρέφη με CAIS, με αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις της AMH να είναι ακόμα υψηλότερες. Η ανεύρεση υψηλών τιμών AMH βοηθά στην διαφοροδιάγνωση του CAIS από την πλήρη γοναδική δυσγενεσία κατά την οποία υπάρχει δυσλειτουργία των κυττάρων Sertoli.

Η διαφοροδιάγνωση του CAIS στις έφηβες περιλαμβάνει όλα τα αίτια πρωτοπαθούς αμηνόρροιας όπως η πλήρης γοναδική δυσγενεσία, το σύνδρομο Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) και άλλες ανωμαλίες των πόρων του Muller αποφρακτικού τύπου. Στην διαφορική διάγνωση δεν πρέπει να λησμονούνται και όλες οι διαταραχές βιοσύνθεσης των ανδρογόνων που αναφέρθηκαν εκτενώς στο κεφάλαιο των 46XY DSD.

## Σύνδρομο μερικής έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (PAIS)

Η κλινική εικόνα του PAIS εξαρτάται από το ποσοστό ανταπόκρισης των έξω γεννητικών οργάνων στα ανδρογόνα. Ο τυπικός φαινότυπος του PAIS περιλαμβάνει

μικροφαλία, περινεϊκό υποσπαδία, δίχωρο – διαχωρισμένο όσχεο με ή δίχως γονάδες εντός αυτού. Σε μερικές περιπτώσεις τα έξω γεννητικά όργανα ομοιάζουν αυτά του CAIS με άλλοτε άλλο βαθμό κλειτοριδομεγαλίας. Ο τελευταίος φαινότυπος έχει περιγραφεί με τον όρο Severe AIS (σοβαρή-σημαντική έλλειψη ευαισθησίας στα ανδρογόνα) και συνηθέστερα αποδίδεται το θήλυ φύλο στα νεογνά αυτά. Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 2) παρουσιάζονται τα αίτια που οδηγούν σε μειωμένη αρρενοποίηση ενός ατόμου με καρυότυπο 46XY και φαινότυπο ανάλογο του PAIS. Η διάγνωση τίθεται κατόπιν εκτεταμένων γενετικών και βιοχημικών δοκιμασιών. Πρέπει να ακολουθείται συγκεκριμένος αλγόριθμος στην διερεύνηση των βρεφών αλλά και των εφήβων με υπόνοια DSD από εκτεταμένη ομάδα εξειδικευμένων επιστημόνων <sup>36</sup>.

Ο υποσπαδίας αποτελεί μια συχνότατη συγγενή ανωμαλία των ανδρών με συχνότητα εμφάνισης 8 ανά 1000 γεννήσεις αρρένων και συνδυάζεται με χαμηλό βάρος γέννησης άγνωστης αιτιολογίας. Η διάγνωση του PAIS τίθεται όταν καθορισθεί η ακριβής αλληλουχία του μεταλλαγμένου γονιδίου του υποδοχέα ανδρογόνων. Επιπροσθέτως πρέπει να γίνεται και εργαστηριακή επιβεβαίωση προκειμένου να αποδεικνύεται η παθογένεια.



Πίνακας 2. Διαφορική διάγνωση ατόμων με φαινότυπο PAIS

<b>Διαφορική διάγνωση ατόμων με φαινότυπο PAIS</b>	
<b>Διαταραχές στην παραγωγή ανδρογόνων</b>	
Μερική γοναδική δυσγενεσία	
Μεταλλάξεις στα γονίδια <i>SRY</i> , <i>NR5A1</i> , <i>WT1</i>	
Μεταλλάξεις στον υποδοχέα της LH	
Ανεπάρκειες ενζύμων που συμμετέχουν στην βιοσύνθεση	
Ανεπάρκεια της 17,20 λυάσης	
Ανεπάρκεια της P450 οξυδοαναγωγάσης	
Ανεπάρκεια της 17β-υδροξυστεροειδικής αφυδρογονάσης τύπου III	
Ανεπάρκεια της 5α-αναγωγάσης τύπου II	
<b>Γενετικά</b>	
Σύνδρομο Klinefelter	
Σύνδρομο Smith-Lemli-Opitz	
Σύνδρομο Denys-Drash	
Σύνδρομο Frasier	
<b>PAIS</b>	
Μεταλλάξεις των γονιδίων του ανδρογονικού υποδοχέα	
Φυσιολογικός ανδρογονικός υποδοχέας με υπολειπόμενη ενδομήτρια ανάπτυξη	
PAIS=partial androgen insensitivity syndrome	NR5A1=nuclear receptor subfamily 5 A1
SRY=sex-determining region Y	WT1=Wilms' tumour 1

## Σύνδρομο ήπιας έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (MAIS)

Το MAIS σχετίζεται με μετάλλαξη στο γονίδιο του ανδρογονικού υποδοχέα και τίθεται σπάνια ως διάγνωση. Οι πάσχοντες με MAIS εμφανίζουν υπογονιμότητα αλλά δεν παρουσιάζουν διαμαρτίες διάπλασης των έξω γεννητικών οργάνων τους<sup>37</sup>. Χορήγηση υψηλών δόσεων ανδρογόνων μπορεί να επιφέρει βελτίωση στον αριθμό των σπερματοζωαρίων του σπερμοδιαγράμματος και άρα επαναφορά της γονιμοποιητικής ικανότητας. Οι συγκεντρώσεις των LH & T σε έναν υπογόνιμο άνδρα μπορεί να θέσει την υπόνοια MAIS και χρησιμοποιείται ως μέθοδος πληθυσμιακού ελέγχου (screening test). Έχει αποδειχθεί μέσω πειραμάτων σε ποντίκια ότι η ορθή λειτουργία του ανδρογονικού υποδοχέα στα κύτταρα Sertoli και Leydig είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την φυσιολογική σπερματογένεση<sup>38</sup>.

Το MAIS συνδυάζεται με μυϊκή ατροφία των παρασπονδυλικών μυών και των μυών που νευρώνονται από το στέλεχος του εγκεφάλου. Τέτοιοι μύες είναι αυτοί που ρυθμίζουν την κατάποση, την αναπνοή, την ομιλία και τις άλλες λειτουργίες του αυχένα. Ο συνδυασμός MAIS και μυϊκής ατροφίας ονομάζεται Νόσος Kennedy και αποτελεί φυλοσύνδετο υπολειπόμενο νόσημα (X-linked). Στην νόσο αυτή παρατηρούνται: αυξημένη συγκέντρωση τεστοστερόνης και σχετιζόμενη γυναικομαστία καθώς και υπογονιμότητα λόγω του MAIS<sup>39</sup>.

## Παθογένεια σε μοριακό επίπεδο

Σε αμφότερα τα CAIS και PAIS πολλαπλές μεταλλάξεις κατανέμονται στα οκτώ εξώνια (exons) του γονιδίου που κωδικοποιεί τον υποδοχέα ανδρογόνων. Οι ινοβλάστες του δέρματος των γεννητικών οργάνων έχουν μεγάλο αριθμό υποδοχέων ανδρογόνων και οι βιοψίες του δέρματος αυτού χρησιμοποιούνται για να υπολογισθεί η συνδεσιμότητα των ανδρογόνων. Στο CAIS τυπικά απουσιάζει η συνδεσιμότητα ενώ στο PAIS και στο MAIS υπολογίζεται ο διαφορετικός βαθμός συγγένειας των ανδρογόνων (η συγγένεια πρόσδεσης= binding affinity=  $K_d$ ). Οι ινοβλάστες του δέρματος των γεννητικών οργάνων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για: α) να αναγνωρίσουν τις μεταλλάξεις που διακόπτουν την παραγωγή του RNA, β) μέσω western blot να υπολογισθεί η ποσοτικοποίηση της έκφρασης του υποδοχέα ανδρογόνων και γ) να μελετηθούν οι φαινοτυπικές παραλλαγές μεταξύ ασθενών με τις ίδιες μεταλλάξεις<sup>40</sup>.

Σε ποσοστό μεγαλύτερο από 95% των ασθενών με CAIS αναγνωρίζεται μια μετάλλαξη στον υποδοχέα των ανδρογόνων. Πρέπει να υπολογίζεται η μεταγραφική δραστηριότητα του μεταλλαγμένου ανδρογονικού υποδοχέα κυρίως σε ασθενείς με φαινότυπο PAIS ή MAIS. Οι μεταλλάξεις και η λειτουργία του ανδρογονικού υποδοχέα συσχετίζονται στην ενδομητρική περίοδο μιας και αυτές καθορίζουν το ποσοστό αρρενοποίησης των έξω γεννητικών οργάνων<sup>41</sup>. Το 30% των μεταλλάξεων των CAIS είναι αυθόρμητες – αυτόματες. Οι περισσότερες από τις νέες μεταλλάξεις του *AR* εμφανίζονται μετά την δημιουργία του ζυγώτη. Οι ίδιες μεταλλάξεις μπορούν να εκφραστούν με διαφορετικό φαινότυπο και αυτό αναγνωρίζεται μεταξύ μελών της ίδιας οικογένειας<sup>42</sup>.

Σύμφωνα με την βάση δεδομένων (<http://androgendb.mcgill.ca>) "Cambridge database of androgen receptor genes" οι δημοσιευμένες μεταλλάξεις του *AR* ανέρχονται σε 1029 από 604 που είχαν δημοσιευτεί μέχρι το 2004. Από τις παραπάνω μεταλλάξεις, οι 159 σχετίζονται με καρκίνο του προστάτη. Οι ασθενείς με AIS και καρκίνο του προστάτη εμφανίζουν πολλαπλές διαφορετικές μεταλλάξεις στους ίδιους ιστούς. Στην ίδια δημοσίευση αναφέρεται ότι στο 40% των ασθενών με AIS δεν αναγνωρίζονται μεταλλάξεις στο γονίδιο *AR*<sup>43</sup>.

### Γενικές αρχές αντιμετώπισης

Η αντιμετώπιση των ασθενών με AIS θα πρέπει να λαμβάνει υπόψιν πολλαπλά λειτουργικά, σεξουαλικά και ψυχολογικά ζητήματα όπως η δημοσιοποίηση, η γοναδεκτομή και η επακόλουθη θεραπεία υποκατάστασης, η δημιουργία λειτουργικού κόλπου και η παροχή γενετικών συμβουλών. Η φροντίδα πρέπει να είναι εξατομικευμένη, ευμετάβλητη – ευέλικτη και ολιστική. Πολλαπλές ειδικότητες πρέπει να συμμετέχουν στην ομάδα αντιμετώπισης αυτών των ασθενών. Μεταξύ άλλων ειδικοτήτων, ενδοκρινολόγος, γυναικολόγος, ουρολόγος και κλινικός παθολογανατόμος αποτελούν τις πλέον απαραίτητες. Επιπρόσθετα, απαραίτητοι για την ομάδα είναι οι: νεογνολόγος, κλινικός γενετιστής, κοινωνικός λειτουργός και ο ειδικός βιοηθικής. Η διεπιστημονική προσέγγιση είναι επωφελής τόσο για την ασθενή προκειμένου να λάβει την βέλτιστη κλινική αντιμετώπιση, όσο και για τους επαγγελματίες υγείας που συμμετέχουν ή εξειδικεύονται στις ομάδες αντιμετώπισης των DSD<sup>44</sup>. Οι ομάδες στήριξης των ασθενών αυτών (π.χ. the Androgen Insensitivity Syndrome Support Group και dsd Families στο Ηνωμένο Βασίλειο),

έχουν δημιουργηθεί σε πολλές χώρες και θα πρέπει να διαδραματίζουν έναν έντονα υποστηρικτικό ρόλο.

Οι τρεις υποκατηγορίες του AIS, και κυρίως το PAIS, εμφανίζουν φαινότυπο που προσομοιάζουν πολλαπλών άλλων διαταραχών ανάπτυξης του φύλου. Πολλαπλοί ασθενείς που παλαιότερα ονομάζονταν διαφυλικοί (intersex) και κυρίως αυτοί με έξω γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου, θεωρούσαν την παλαιότερα χρησιμοποιούμενη ορολογία αρκετά υποτιμητική. Έτσι γεννήθηκε η ανάγκη νέας ονοματολογίας και νεότερου συστήματος κατάταξης των ασθενών με ανωμαλίες των γεννητικών οργάνων ή των ασθενών με ασυμφωνία φαινοτύπου καρυστύπου. Το σύστημα που έχει επικρατήσει τις μέρες συγγραφής του παρόντος πονήματος είναι το Chicago Consensus κατά το οποίο ο όρος διαφυλικός (intersex) αντικαταστάθηκε από τον όρο διαταραχές της ανάπτυξης του φύλου (DSD= Disorders of Sex Development)<sup>45</sup>. Με τον όρο DSD περιγράφονται όλες οι συγγενείς ανωμαλίες στις οποίες διαπιστώνεται ασυμφωνία μεταξύ χρωμοσωμάτων, γονάδων και φαινότυπου. Ο διαχωρισμός των DSD κυρίως βασίζεται στον καρυστύπο και οι τρεις κύριες υποκατηγορίες είναι: α) ανωμαλίες αριθμού χρωμοσωμάτων, β) 46,XX DSD και γ) 46, XY DSD (βλέπε Πίνακα 3). Όροι που δημιουργούσαν σύγχυση όπως άρρηνη ψευδερμαφροδιτισμός, θήλυς ψευδερμαφροδιτισμός και αληθής ψευδερμαφροδιτισμός αντικαταστάθηκαν από τους 46,XY DSD, 46,XX DSD και ωοθηκορχική DSD αντίστοιχα. Τα CAIS, PAIS και MAIS υπάγονται στην κατηγορία 46,XY DSD και εκπροσωπούν διαταραχές στην δράση των ανδρογόνων. Οι αλλαγές στην ονοματολογία και το επακόλουθο νέο σύστημα κατάταξης – ταξινόμησης έχει τύχει παγκόσμιας αποδοχής – υιοθέτησης προκειμένου να επικρατήσει μια ξεκάθαρη και ενιαία διαφοροδιαγνωστική προσέγγιση

στην αντιμετώπιση των ασθενών με DSD. Η αντιμετώπιση του AIS εξαρτάται από την αρχική ηλικία διάγνωσης του συνδρόμου και από τον φαινότυπο της πλήρους ή μερικής μορφής του συνδρόμου.

Πίνακας 3. Κατάταξη των διαταραχών ανάπτυξης του φύλου (DSD Classification)

<b>Κατάταξη των διαταραχών ανάπτυξης του φύλου (DSD Classification)</b>
<b>DSD φυλετικών χρωμοσωμάτων</b>
45,X (Σύνδρομο Turner και παραλλαγές)
47,XXY (Σύνδρομο Klinefelter και παραλλαγές)
45,X/46,XY (MGD= γοναδική δυσγενεσία μεικτού τύπου, ωοθηκορχική DSD)
46,XX/46,XY (χίμερα, ωοθηκορχική DSD)
<b>46,XY DSD</b>
Διαταραχές στην ανάπτυξη της γονάδας (όρχεως) :
Πλήρης γοναδική δυσγενεσία (Σύνδρομο Swyer)
Μερική γοναδική δυσγενεσία
Παλινδρόμηση γονάδας (υποστροφή)
Ωοθηκορχική DSD
Διαταραχές στην σύνθεση ή στην δράση των ανδρογόνων
Ανεπάρκεια βιοσύνθεσης ανδρογόνων (π.χ. ανεπάρκεια 17βHSD3, ανεπάρκεια 5αRD2, μεταλλάξεις <i>StAR</i> )
Διαταραχή στην δράση των ανδρογόνων (CAIS, PAIS)
Ανεπάρκεια του υποδοχέα της LH (luteinizing hormone)(π.χ. απλασία υποπλασία κυττάρων Leydig)
Διαταραχή στην σύνθεση ή στον υποδοχέα της AMH (anti-Mullerian hormone) (persistent Mullerian duct syndrome)
<b>46,XX DSD</b>
Διαταραχές στην ανάπτυξη της γονάδας (ωοθήκης):
Ωοθηκορχική DSD
Ορχική DSD (π.χ. SRY+, διπλασιασμός SOX9)
Γοναδική δυσγενεσία
Περίσσεια Ανδρογόνων
Εμβρυική (π.χ. ανεπάρκεια 21-υδροξυλάσης, 11-υδροξυλάσης)
Εμβρυοπλακουντιακή (ανεπάρκεια αρωματάσης, POR P450 οξειδοαναγωγής)
Μητρική (ωχρίνωμα =luteoma, εξωγενής πρόσληψη)
Άλλα (π.χ. εκστροφή κλοάκας, ατρησία κόλπου)
MURCS (Mullerian, renal, cervicothoracic somite abnormalities, άλλα σύνδρομα)
Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA; International Consensus Conference on Intersex organized by the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. Pediatrics. 2006 Aug;118(2):e488-500.

## Αντιμετώπιση CAIS

Πρέπει να γίνεται ενδεδειγμένος έλεγχος κάθε νεογνού στο οποίο κατά την διάρκεια πλαστικής βουβωνοκήλης ανακαλύπτεται γοναδικός ιστός εντός του βουβωνικού πόρου. Πρέπει πάντοτε να λαμβάνεται βιοψία της γονάδας και να τοποθετείται αυτή είτε υποδορίως ή ενδοπεριτοναϊκά έως ότου ληφθεί η ιστολογική και υπάρξει εκτενής συζήτηση με τους γονείς για την μελλοντική αντιμετώπιση. Όταν τεθεί η διάγνωση του CAIS στην βρεφική ηλικία υπάρχουν δύο δυνατότητες. Στην πρώτη εκτελείται γοναδεκτομή σε κοντινό διάστημα και η ενήβωση επάγεται με θεραπεία υποκατάστασης. Στην δεύτερη οι γονάδες αφήνονται έως ότου επιτευχθεί η ήβη και στην συνέχεια εξαιρούνται. Οι γονείς μπορούν να επιλέξουν την γοναδεκτομή σε μικρή ηλικία προκειμένου το παιδί να μην εμπλακεί με (να μην αντιληφθεί) την ιδιαίτερα στρεσογόνα διάγνωση του CAIS. Η απόφαση των γονέων μπορεί να επηρεασθεί και από τον κίνδυνο εκδήλωσης γοναδικού όγκου ο οποίος είναι πολύ χαμηλός στην παιδική ηλικία<sup>46</sup>.

Η καθυστερημένη γοναδεκτομή έχει αρκετά πλεονεκτήματα. Η ήβη επισυμβαίνει αυτόματα στα φυσιολογικά ηλικιακά όρια για τα κορίτσια. Η επιτάχυνση της αύξησης του ύψους και η ανάπτυξη του μαστού επέρχονται φυσιολογικά αλλά δεν υφίσταται εμμηναρχή. Στην περίπτωση γοναδεκτομής σε βρεφική ή παιδική ηλικία τα παραπάνω ("έκρηξη" ύψους & θηλαρχή) θα επέλθουν εφόσον χορηγηθεί υποκατάσταση με οιστρογόνα. Το δοσολογικό σχήμα ομοιάζει αυτού που ακολουθείτε στις ασθενείς με σύνδρομο Turner. Συχνότατα χορηγείτε αιθυνύλ-οιστραδιόλη με αρχική δοσολογία 2 mgr ημερησίως σε ηλικία 11 ετών περίπου. Η δοσολογία αυτή αυξάνεται προοδευτικά με 2-4 mgr μέχρι η ημερήσια δοσολογία να φτάσει τα 30 mgr σε διάστημα 2 ετών. Στην συνέχεια



αλλά και στις περιπτώσεις μετεφηβικής γοναδεκτομής, υπάρχουν πολλαπλά διαφορετικά δοσολογικά σχήματα υποκατάστασης με φυσική οιστραδιόλη είτε απ' το στόμα ή διαδερμικά. Η αιθυνύλ-οιστραδιόλη χορηγείται με την μορφή αντισυλληπτικού δισκίου ενώ τα φυσικά οιστρογόνα χορηγούνται καλύτερα διαδερμικά είτε με την μορφή αυτοκόλλητου (patch) ή ως γέλη (gel). Η διαδερμική χορήγηση φαίνεται προτιμότερη έναντι την από του στόματος, διότι παρακάμπτεται η ηπατική διέλευση ακόμα και στην πρόκληση της ενήβωσης<sup>47</sup>. Η επιλογή της οδού χορήγησης έχει υποδεέστερη σημασία έναντι της συμμορφωσιμότητας. Επιθυμητή οδός χορήγησης είναι αυτή στην οποία συμμορφώνεται και ακολουθεί αναντίρρητα η ασθενής. Δεδομένου ότι οι ασθενείς με CAIS δεν έχουν μήτρα, δεν χρειάζεται η προσθήκη προγεσταγόνου στην θεραπεία υποκατάστασης. Αρκεί η μονοθεραπεία με (μεμονωμένα) οιστρογόνα, μιας και δεν υπάρχει κίνδυνος υπερπλασίας του ενδομητρίου.

Ορισμένες ασθενείς επιθυμούν εκτός των οιστρογόνων να λαμβάνουν επιπλέον και τεστοστερόνη, αναφέροντας ότι αισθάνονται πολύ καλύτερα με την συνδυασμένη θεραπεία έναντι της μονοθεραπείας. Η βελτίωση της λίμπιντο επέρχεται από την συνδυασμένη θεραπεία αλλά δεν είναι γνωστό αν αυτό επιτυγχάνεται από την προσθήκη της T ή από την αρωματοποίηση της T σε E<sub>2</sub>. Τα ανδρογόνα έχουν άμεση επίδραση στην διατήρηση της οστικής πυκνότητας ανεξάρτητα από τα οιστρογόνα, λαμβάνοντας υπόψιν ότι τα άτομα με CAIS έχουν μειωμένη οστική πυκνότητα <sup>48</sup>. Οι ασθενείς με CAIS που υποβάλλονται σε γοναδεκτομή στην μετεφηβική περίοδο έχουν σαφώς υψηλότερο μέσο ανάστημα έναντι αυτών που γοναδεκτομούνται στην παιδική ηλικία . Δεν είναι γνωστό αν υπάρχει αντίστοιχη επίδραση και στην οστική πυκνότητα μεταξύ αυτών των δύο

πληθυσμιακών υποσυνόλων (ενωρίς ή καθυστερημένη γοναδεκτομή)<sup>49</sup>. Είναι πραγματικά καθησυχαστικό ότι οι ασθενείς αυτοί δεν έχουν αυξημένο κίνδυνο για κατάγματα. Η μέτρηση της οστικής πυκνότητας σε αυτές τις ασθενείς πρέπει να εκτελείται κατά τον αρχικό έλεγχο (κατά την διάγνωση) και ανά διετία προκειμένου να ελέγχεται η επάρκεια του θεραπευτικού σχήματος της ορμονικής υποκατάστασης.

Η γοναδεκτομή, εφόσον δεν λάβει χώρα κατά την νεογνική περίοδο, γενικά προτείνεται να εκτελείται στην αρχή της ενήλικης ζωής, προκειμένου να αποφευχθεί ο κίνδυνος γοναδικού όγκου. Στην περίπτωση ενδοπεριτοναϊκής εντόπισης προτιμότερη μέθοδος εξαίρεσης είναι η λαπαροσκοπική. Εφόσον δεν εκτελεσθεί η γοναδεκτομή μέχρι την αρχή της ενήλικης ζωής, ο κίνδυνος για εμφάνιση όγκου ανέρχεται στο 30%<sup>50</sup>. Σύμφωνα με μια πρόσφατη μετανάλυση από το Ηνωμένο Βασίλειο αναφέρεται ότι η αναβολή της γοναδεκτομής από τις ασθενείς με CAIS οφείλεται στον φόβο για την χειρουργική επέμβαση, την ταλαιπωρία και την απροθυμία να λάβουν υποκατάσταση στην συνέχεια. Ο κίνδυνος που υπολογίσθηκε στην ίδια μετανάλυση κυμαίνεται από 0% έως 22% για τις ασθενείς που διατήρησαν τις γονάδες τους μετά την ηλικία των 18 ετών με έναν μέσο κίνδυνο 14%<sup>51</sup>. Σε άρθρο ανασκόπησης αναφέρεται ότι ο αντίστοιχος κίνδυνος για τις ασθενείς πριν την ήβη είναι πολύ χαμηλότερος με μια διακύμανση 0,8-2%<sup>52</sup>. Οι όγκοι των γεννητικών κυττάρων κατατάσσονται σε 5 κατηγορίες ανάλογα με την εντόπιση, την θέση εκδήλωσης, την ηλικία, την ιστολογία και το είδος χρωμοσωμάτων τους. Οι όγκοι των CAIS ασθενών ανήκουν στην κατηγορία 2 (type II) και συνηθέστερα είναι σεμινώματα, μη-σεμινώματα και δυσγερμινώματα γοναδοβλαστώματα. Η παρακολούθηση των ασθενών που δεν επιθυμούν την γοναδεκτομή γίνεται μόνο με

απεικονιστικές μεθόδους μιας και δεν υπάρχουν καρκινικοί δείκτες ειδικοί για αυτούς τους όγκους.

Οι ασθενείς με CAIS σπάνια χρειάζονται κολπική επέμβαση για την δημιουργία λειτουργικού κόλπου. Η χρήση κολπικών διαστολέων ή η ίδια η σεξουαλική δραστηριότητα είναι εξίσου ικανές μέθοδοι και θεραπείες πρώτης γραμμής για την εμπάθυνση του κόλπου. Οι ενήλικες με CAIS όταν επιτύχουν ένα ικανοποιητικό μήκος κόλπου, σπάνια αναφέρουν σεξουαλική δυσλειτουργία. Στις περιπτώσεις όπου χρειάζεται χειρουργική παρέμβαση-διόρθωση η τελευταία πρέπει να καθυστερεί μέχρι η ασθενής να χορηγεί την συγκατάθεσή της και να είναι ικανή να χρησιμοποιήσει διαστολεις μετεγχειρητικά<sup>53</sup>. Η κλειτορίδα των γυναικών με CAIS είναι μικρότερη από την αντίστοιχη των φυσιολογικών γυναικών, πιθανότατα διότι δεν υπήρξε προγεννητική ή μετά την γέννηση δράση των ανδρογόνων στις πρώτες<sup>54</sup>.

Η υπογονιμότητα των ασθενών με CAIS αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που καλούνται να αντιμετωπίσουν. Η υιοθεσία ή η χρήση ωαρίου δότριας γονιμοποιημένο με το σπέρμα του συντρόφου και η τοποθέτηση της τροφοβλάστης σε δανεική μήτρα αποτελεί μια εναλλακτική λύση. Η ψυχολογική υποστήριξη των CAIS αποτελεί έναν από τους ακρογωνιαίους λίθους της ομάδας ειδικών που αντιμετωπίζουν ασθενείς με DSD. Όπως έχει προαναφερθεί η αντιμετώπιση των ασθενών αυτών αλλά και των γονέων/κηδεμόνων τους πρέπει να γίνεται από μια ομάδα πολλαπλών ειδικοτήτων με εξειδίκευση στα DSD. Ο ψυχολόγος αποτελεί έναν εκ των βασικότερων ειδικοτήτων<sup>55</sup>. Όταν η ασθενής είναι μικρής ηλικίας, οι γονείς/κηδεμόνες της καλούνται να λάβουν αποφάσεις κατά την διάγνωση, για την θεραπεία που θα ακολουθηθεί είτε άμεσα ή στο

μέλλον. Αποφασίζουν για το είδος, την έκταση της επέμβασης και τον χρόνο διενέργειά της. Στις περιπτώσεις πρωτοδιάγνωσης κατά την εφηβεία, των αποφάσεων πρέπει να συμμετέχει και η ίδια η ασθενής. Πάντοτε πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για την αφομοίωση των διαφορών μεταξύ του χρωμοσωμικού, γοναδικού και φαινοτυπικού φύλου.

Παλαιότερα προκειμένου να “προστατευθούν” οι γονείς και η ασθενής από το σοκ και την ντροπή, ακολουθείτο μια διαδικασία απόκρυψης της ακριβούς διάγνωσης. Η προσέγγιση αυτή εγκαταλήφθηκε και προοδευτικά αντικαταστάθηκε από την μερική ή πλήρη αποκάλυψη της ακριβούς διάγνωσης. Διενεργήθηκε μία μελέτη για τα συναισθήματα που προκύπτουν κατά την διάγνωση του AIS. Τόσο οι γονείς όσο και οι έφηβες/ενήλικες ασθενείς εκδήλωσαν σοκ, θλίψη και θυμό σε πρώτο χρόνο<sup>56</sup>. Σε μια άλλη έρευνα ασθενών με DSD, οι νεότερες γυναίκες με CAIS ήταν καλύτερα ενημερωμένες από τις μεγαλύτερες και πολλές από αυτές ήταν πλήρως γνώστριες στην ηλικία των 15 ετών. Στην ίδια έρευνα κάποιες ασθενείς εξέφρασαν την επιθυμία να είχαν πληροφορηθεί κάποιες πτυχές της διάγνωσης σε μικρότερη ηλικία, όπως την παρουσία όρχεων και τον ακριβή καρυότυπο<sup>57</sup>.

Η αποκάλυψη της διάγνωσης πρέπει να γίνεται προσεκτικά, ειδικά σε ότι αφορά στα παιδιά με CAIS καθώς προσεγγίζουν την εφηβεία. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίδεται στην αποκάλυψη ζητημάτων όπως του καρυότυπου 46,XY , στην παρουσία όρχεων, στην απουσία της μήτρας, στην υπογονιμότητα και στην σεξουαλική λειτουργία. Αυτές οι πληροφορίες πρέπει αρχικά να δίδονται στους γονείς και στην συνέχεια να αποκαλύπτονται στο παιδί που μεγαλώνει με τον καταλληλότερο τρόπο και στην

καταλληλότερη ηλικία. Οι μητέρες των κοριτσιών με CAIS αρκετά συχνά αισθάνονται ενοχή για την διαταραχή αυτή και φοβούνται μήπως ζήσουν την απόρριψη του παιδιού τους όταν αυτό ενημερωθεί πλήρως για το πρόβλημα.

Η ψυχοσεξουαλική καθοδήγηση των CAIS προς τυπική γυναικεία ανατροφή, γυναικεία ταυτότητα και γυναικεία συμπεριφορά φαίνεται να τυγχάνει της απόλυτης αποδοχής των ασθενών αυτών όπως στις φυσιολογικές γυναίκες. Λιγότερο θετικά είναι τα αποτελέσματα της σεξουαλικής ικανοποίησης στις ασθενείς αυτές. Έχουν δημοσιευθεί προβλήματα σεξουαλικής επιθυμίας, διέγερσης και δυσπαρεΰνιαι σε άτομα με 46XY DSD ειδικότερα σε CAIS <sup>58</sup>. Κατά την ωρίμανση των ατόμων αυτών εμφανίζονται διαταραχές στην αποδοχή του φύλου, οι οποίες αντιμετωπίζονται με ψυχολογικές παρεμβάσεις. Οι δυσκολίες στην κολπική διείσδυση των ασθενών με CAIS αντιμετωπίζεται είτε με την χρήση διαστολέων ή με την τακτική διεισδυτική κολπική επαφή και συνηθέστερα επιτυγχάνεται διόρθωση της κολπικής υποπλασίας χωρίς ανάγκη χειρουργικής παρέμβασης.

## Σύνδρομο μερικής έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα (PAIS)

Τα νεογνά με PAIS εμφανίζουν γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου. Τα καθοριστικά σημεία στην αντιμετώπιση των νεογνών αυτών είναι η εξακρίβωση της διάγνωσης, η απόδοση του φύλου βάση του οποίου θα ανατραφεί το νεογνό αυτό και οι αρχικές παρεμβάσεις που πρέπει να λάβουν χώρα. Παρόμοιος φαινότυπος μπορεί να

προκύπτει από πολλαπλές 46XY DSD διαφορετικής αιτιολογίας. Η οριστική διάγνωση του PAIS τίθεται όταν προσδιορίζεται η ακριβής μετάλλαξη του ανδρογονικού υποδοχέα και επιβεβαιώνεται η δυσλειτουργία του τελευταίου (ανδρογονικού υποδοχέα). Η πληροφορία αυτή σπάνια προηγείται της απόδοσης φύλου στο νεογνό-βρέφος. Προκειμένου να καθορισθεί η ανταπόκριση στα ανδρογόνα, χορηγούνται είτε 3 μήνες τεστοστερόνης ενδομυϊκά (25 mg ενδομυϊκά ανά μήνα επί 3 μήνες) ή τοπική χρήση γέλης διυδροτεστοστερόνης<sup>59</sup>.

Η πλειοψηφία των νεογνών με PAIS ανατρέφονται ως αγόρια. Δεν υπάρχουν πολλαπλές δημοσιεύσεις για την εφηβική περίοδο των ασθενών με PAIS. Έχει τονισθεί η ανάγκη δημιουργίας βαθμολογίου της εξωτερικής αρρενοποίησης. Μέσω αυτού (του βαθμολογίου) θα υπολογίζεται ο βαθμός μειωμένης αρρενοποίησης των 46XY DSD νεογνών και πιθανά θα μπορεί να προβλεφθεί η αρρενοποίηση τους κατά την εφηβεία, ειδικά όταν αφορά σε PAIS στα οποία αποδίδεται το αρρηνό φύλο. Η υποκατάσταση με ανδρογόνα κατά την εφηβεία των ασθενών με AIS είναι συχνά απαραίτητη αλλά όχι πάντα. Η διόρθωση του υποσπαδία και η χειρουργική κάθοδος των όρχεων στο όσχεο πρέπει να εκτελούνται μεταξύ 2<sup>ου</sup> και 3<sup>ου</sup> έτους. Η γυναικομαστία που απαιτεί πλαστική διόρθωση επισυμβαίνει στην εφηβεία των PAIS. Η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού στους ασθενείς με PAIS είναι μικρή<sup>60</sup>. Αν εξαιρεθεί η αναφορά ενός περιστατικού 19χρονης με νεανικό ινοαδένωμα και CAIS, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές ασθενών με CAIS και καρκίνο μαστού.

Όταν αποδίδεται το θήλυ φύλο σε ένα νεογνό με PAIS, θα πρέπει να ακολουθήσουν αφενός γοναδεκτομή πρό της εφηβείας για να αποφευχθεί αρρενοποίηση και αφετέρου

πλαστική των γεννητικών οργάνων για δημιουργία έξω γεννητικών οργάνων θήλεος καθώς και λειτουργικός νεόκολπος. Η ενήβωση επιτυγχάνεται με χορήγηση οιστρογόνων. Ο κίνδυνος για νεόπλασμα από γεννητικά κύτταρα είναι μεγαλύτερος στους ασθενείς με PAIS έναντι των CAIS με μια προτεινόμενη επίπτωση 15% και υψηλότερη ειδικά στις περιπτώσεις στις οποίες όπου οι όρχεις δεν έχουν κατέλθει στο όσχεο<sup>61</sup>. Οι ενήλικες ασθενείς με PAIS εμφανίζουν συχνότερα και εντονότερα ψυχολογική δυσφορία έναντι των ασθενών με CAIS, ανεξάρτητα από το φύλο που τους αποδόθηκε και με το οποίο ανατράφηκαν. Σε μια μελέτη ανδρών με PAIS η σεξουαλική δραστηριότητα ήταν σημαντικά επηρεασμένη<sup>62</sup>. Οι μελέτες παρακολούθησης της σεξουαλικής δυσλειτουργίας περιλαμβάνουν μικρό αριθμό ασθενών ενώ υπάρχει ανάγκη για μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό συμμετεχόντων και εκτίμηση αυτών με αντικειμενικότερα κριτήρια για την σεξουαλική ικανότητα.

Ακόμα λιγότερες πληροφορίες αφορούν σε ασθενείς με MAIS (ήπια έλλειψη ευαισθησίας στα ανδρογόνα). Οι ασθενείς αυτοί μπορεί να χρειασθούν πλαστική μαστών για αντιμετώπιση γυναικομαστίας και λήψη ανδρογόνων για βελτίωση της ολιγοσπερμίας.

## Σύνδρομο Swyer

Ο Swyer πρώτος το 1955, περιέγραψε 2 περιπτώσεις άρρην ψευδεμφροδιτισμού που δεν είχαν προηγουμένως δημοσιευθεί. Οι γυναίκες αυτές είχαν παραπεμφθεί λόγω πρωτοπαθούς αμηνόρροιας με καρυότυπο 46XY, που προέκυψε τόσο ως αποτέλεσμα ελέγχου πολυμορφοκυρήνων αίματος όσο και από ινοβλάστες δέρματος<sup>63</sup>.

Η πρώτη ασθενής ήταν 19 ετών με υψηλό ανάστημα (1,75 m), πολύ λεπτό σώμα (52,6 Kgr), υποπλαστικούς μαστούς, μικρές θηλές, γυναικεία χροιά φωνής. Η τρίχωση της κεφαλής ήταν φυσιολογική, υπήρχε ήπια τριχοφυΐα στο άνω χείλος, αυξημένη τριχοφυΐα αναγνωρίσθηκε στις μασχάλες και στο εφήβαιο, αραιή τέλος ήταν η τρίχωση στα άνω και κάτω άκρα. Το δέρμα και οι μύες ήταν φυσιολογικοί. Είχε 80 σφίξεις, 130/80mm Hg αρτηριακή πίεση, φυσιολογικό θώρακα & κοιλιά χωρίς ύπαρξη βουβωνοκλήλης. Τα έξω γεννητικά όργανα ήταν θήλεος τύπου με ήπια αύξηση του μεγέθους της κλειτορίδας και ελαφρώς αυξημένα τα μικρά χείλη του αιδοίου. Η δοκιμασία κατά Παπανικολάου ανέδειξε εξεσημασμένο υποοιστρογονισμό. Σε εξέταση υπό νάρκωση διαπιστώθηκε φυσιολογικός κόλπος & τράχηλος, υποπλαστική μήτρα και μη ψηλαφητά εξαρτήματα.

Η δεύτερη ασθενής ήταν 24 ετών και παραπέμφθηκε επίσης για πρωτοπαθή αμηνόρροια. Σε ηλικία 17 ετών είχε εξετασθεί από γυναικολόγο για την αμηνόρροια και εκείνος είχε διαπιστώσει υποπλαστικές "ωοθήκες". Ο Swyer περιγράφει μια κοπέλα με θηλυκή όψη, υψηλό ανάστημα (1,79 m), λεπτό σώμα (67,6 Kgr), υποπλαστικούς μαστούς, βαθιά χροιά φωνής, φυσιολογική τρίχωση κεφαλής, αραιή τρίχωση μασχάλης και εφηβαίου. Η αρτηριακή πίεση (120/70mm Hg) και οι σφίξεις (76/λεπτό) ήταν εντός φυσιολογικών ορίων. Φυσιολογικός ήταν επίσης ο θώρακας, η κοιλιά και η κατανομή του



μιϊκού ιστού, χωρίς να διαπιστωθεί ύπαρξη βουβωνοκηλών. Τα έξω γεννητικά όργανα ήταν φυσιολογικά, χωρίς μεγέθυνση κλειτορίδας, ο κόλπος είχε φυσιολογικό βάθος και η δοκιμασία κατά Παπανικολάου ανέδειξε επίσης υποοιστρογονισμό. Η εξέταση υπό νάρκωση επιβεβαίωσε και στην δεύτερη ασθενή την ύπαρξη φυσιολογικού κόλπου με μικρό τράχηλο και υποπλαστική μήτρα.

Οι διαφορές, που πρώτος παρατήρησε ο Swyer, στις ανωτέρω δύο περιπτώσεις έναντι των υπολοίπων, μέχρι τότε γνωστών, “κλασσικών αρρένων ψευδεμφροδίων” ήταν ότι οι πρώτες είχαν φυσιολογική τριχοφυΐα ενώ οι δεύτερες όχι. Οι νέες περιπτώσεις είχαν υποπλαστικούς μαστούς, οι παλαιότερες φυσιολογικούς. Στις δύο αυτές περιπτώσεις ανακαλύφθηκε φυσιολογικό μήκος κόλπου, μικρός τράχηλος και υποπλαστική μήτρα ενώ οι μέχρι τότε γνωστές περιπτώσεις είχαν έναν αβαθή κόλπο και όχι τράχηλο-μήτρα. Ο Swyer δεν σταμάτησε σε αυτές τις διαφορές αλλά συνέχισε και διατύπωσε και τις διαφοροποιήσεις των περιστατικών του από το σύνδρομο γοναδικής αγενεσίας (Turner’s syndrome) καθώς και από τον πρωτοπαθή και δευτεροπαθή υπογοναδισμό. Από τότε υπογραμμίσθηκε η ανάγκη να παρθούν βιοψίες από τις γονάδες αλλά το επιστημονικό ενδιαφέρον δεν κρίθηκε επαρκές αίτιο προκειμένου να υποβληθούν οι ασθενείς σε λαπαροτομία.

Το σύνδρομο Swyer αποδίδεται σε άτομα με δυσγενετικές γονάδες και συχνά αναφέρεται και ως αμιγής γοναδική δυσγενεσία (pure gonadal dysgenesis = PGD). Ποσοστό 10-20% των ασθενών με Σ. Swyer φέρουν μια απάλειψη-εξάλειψη από το γονίδιο *SRY* και συγκεκριμένα την περιοχή σύνδεσης του DNA. Στο υπόλοιπο 80-90% των

περιπτώσεων αναφέρονται μεταλλάξεις σε άλλες περιοχές του γονιδιώματος, περιοχές καθοριστικές για την διαφοροποίηση της διδύναμης γονάδας προς όρχι, ενώ το γονίδιο *SRY* ανιχνεύεται άθικτο. Έχουν δημοσιευθεί πολλαπλές μεταλλάξεις του *SRY* είτε οικογενείς ή de novo οι οποίες προκαλούν τον θήλυ φαινότυπο σε 46,XY άτομα με πλήρη γοναδική δυσγενεσία<sup>64</sup>. Στην ίδια δημοσίευση αναφέρεται ότι πρέπει να ελέγχονται όλοι οι συγγενείς των πασχόντων με μετάλλαξη στο *SRY* προκειμένου να αναδεικνύονται οι οικογενείς περιπτώσεις και να χορηγείται η κατάλληλη γενετική συμβουλή. Έτερα γονίδια υπεύθυνα για την PGD έχουν αναφερθεί σε διάφορες δημοσιεύσεις και σημαντικότερα φαίνονται ότι είναι τα *ZFY, SOX9, SF1, WT1, DYZ1, & DAX1*<sup>65, 66</sup>.

Τα άτομα με Σ. Swyer γεννιούνται με φυσιολογικά έξω και έσω γεννητικά όργανα θήλεος και δεν τίθεται κανένα θέμα αμφιβολίας του φύλου τους. Η συνηθέστερη περίοδος διάγνωσης είναι η όψιμη εφηβική λόγω διερεύνησης καθυστερημένης ήβης &/ή πρωτοπαθούς αμηνόρροιας.

Εκτός της αμιγούς γοναδικής δυσγενεσίας (PGD), στα XY κορίτσια περιλαμβάνονται και θήλεα με μεικτού τύπου γοναδική δυσγενεσία (mixed gonadal dysgenesis) ή μερική γοναδική δυσγενεσία (partial gonadal dysgenesis). Στην μεικτού τύπου γοναδική δυσγενεσία παρατηρείτε μια ασύμμετρη ανάπτυξη των γονάδων. Οι καρυότυποι αυτής της ομάδας δεν είναι μόνο 46,XY αλλά μωσαϊκισμοί του τύπου 45X/46XY<sup>67</sup>. Ανάλογα με το είδος του μωσαϊκισμού ο φαινότυπος ποικίλει ανάμεσα σε άρρενος, απόμου με γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου, θήλεος. Σπανιότερα η γοναδική δυσγενεσία δεν είναι πλήρης και περιγράφεται με τον όρο μερική γοναδική δυσγενεσία (partial gonadal dysgenesis).

Η επίπτωση τόσο του Συνδρόμου Swyer όσο και του CAIS ποικίλει βιβλιογραφικά με αναφορές που κυμαίνονται από 1 ανά 20.000 <sup>68</sup> έως 1 ανά 80.000 <sup>69</sup> για το πρώτο και από 1-5 ανά 100.000 <sup>70</sup> έως 1 ανά 40.000 <sup>68</sup> για το δεύτερο (CAIS).

Όπως προαναφέρθηκε τα άτομα με Σ. Swyer πρωτοδιαγιγνώσκονται κατά την εφηβεία λόγω απουσίας εμμηναρχής ή λόγω καθυστερημένης ήβης. Ζητούν βοήθεια λόγω πρωτοπαθούς αμηνόρροιας και χαρακτηριστικά είναι αδύνατες, ψηλές κοπέλες (ψηλότερες από το μέσο ύψος των γυναικών) λόγω του γονιδίου του ύψους που εδράζεται στο Υ χρωμόσωμα<sup>71</sup>. Στην δημοσίευση των Μιχαλά και συν.<sup>68</sup> αναφέρεται ότι παλαιότερα τα άτομα αργούσαν περισσότερο να διαγνωσθούν σε σχέση με τα νεότερα άτομα που διαγιγνώσκονται ενωρίτερα. Συγκεκριμένα αναφέρεται ότι παλαιότερα μέσος χρόνος πρώτης διάγνωσης ήταν 23 ετών ενώ στις νεότερες ασθενείς η ηλικία διάγνωσης έχει μειωθεί στα 16 έτη. Δύο είναι οι πιθανότερες ερμηνείες αυτής της μείωσης. Η πρώτη είναι ότι οι γονείς και κηδεμόνες αναζητούν εγκαίρως λύση για το πρόβλημα της πρωτοπαθούς αμηνόρροιας των θυγατέρων τους, είναι ενημερωμένοι ότι πρέπει να ζητούν βοήθεια σε μικρότερες ηλικίες. Η δεύτερη ερμηνεία για την πρωιμότερη διάγνωση του συνδρόμου είναι ότι πλέον έχει συμπεριληφθεί σαφώς στην διαφορική διάγνωση της πρωτοπαθούς αμηνόρροιας, η διενέργεια καρυοτυπικού ελέγχου των ασθενών αυτών. Στην ίδια δημοσίευση αναφέρεται ένα μέσο ύψος 1,73 μέτρα για τις ασθενείς με Σ. Swyer, σαφώς μεγαλύτερο του μέσου ύψους των γυναικών.

Τα άτομα με Σ. Swyer δεν γίνονται αντιληπτά κατά την νεογνική, βρεφική ή παιδική ηλικία. Ανατρέφονται ως φυσιολογικά θήλα και δεν υπάρχει κανένα φαινοτυπικό στίγμα του καρυοτύπου 46XY. Το κλειδί στην διάγνωση είναι η διενέργεια της καρυοτυπικής

ανάλυσης. Πρέπει να εξετάζονται μεγάλος αριθμός κυττάρων από διαφορετικούς ιστούς προκειμένου να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα λανθασμένης διάγνωσης. Με αυτό τον τρόπο αποφεύγεται η περίπτωση να διαφύγει της διάγνωσης κάποιος μωσαϊκισμός ο οποίος συμβαίνει σε μεικτού τύπου ή σε μερική γοναδική δυσγενεσία. Ακολουθεί ένας πίνακας (Πίνακας 4) των Jorgensen και συν.<sup>72</sup> στον οποίο παρουσιάζονται τα ανατομικά χαρακτηριστικά των φαινοτυπικά θηλέων με καρυότυπο XY. Τα XY θήλεα έμβρυα δύσκολα γίνονται αντιληπτά προγεννητικά διότι ο καρυότυπός τους όπως προκύπτει από την βιοψία χοριακών λαχνών ή από την αμνιοπαρακέντηση είναι φυσιολογικός άρρενος. Η διάγνωση μπορεί να διερευνηθεί μόνο στις περιπτώσεις όπου υπερηχογραφικά διαπιστώνονται γεννητικά όργανα θήλεος στο υπερηχογράφημα β τριμήνου ή κατά την γέννηση ενός θήλεος νεογνού. Αμέσως μετά τον τοκετό διενεργείται εκ νέου καρυοτυπική ανάλυση του νεογνού. Η διαφορική διάγνωση μεταξύ AIS και Σ. Swyer μπορεί να γίνει μέσω κλινικής και απεικονιστικής εκτίμησης του νεογνού.

Πίνακας 4. Ανατομικά χαρακτηριστικά των XY γυναικών. Jorgensen και συν.<sup>72</sup>

<b>Ανατομικά χαρακτηριστικά των XY γυναικών</b>		
	Χαρακτηριστικά γονάδας	Πόροι Muller και/ή Πόροι Wolff
Σύνδρομο έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα	Φυσιολογικοί όρχεις	Δομές από τους πόρους του Wolff
Αμιγής γοναδική δυσγενεσία	Αμφοτερόπλευρα δυσγενετικές ταινιοειδείς γονάδες – γονάδες από στρώμα ωοθήκης ή γονάδες από αδιαφοροποίητο στρώμα με σωληνάρια ή δομές μεσαύλιου όρχεως	Φυσιολογικές δομές προερχόμενες από τους πόρους του Muller
Μεικτή γοναδική δυσγενεσία	Μία ταινιοειδής γονάδα και μία δυσγενετική ή φυσιολογικός όρχις	Δομές προερχόμενες από τους πόρους του Muller
Μερική γοναδική δυσγενεσία	Αμφοτερόπλευρα δυσγενετικές γονάδες	Μεικτές δομές από τους τους πόρους του Muller & τους πόρους του Wolff

Τα άτομα με Σ. Swyer ή αλλιώς με αμιγή γοναδική δυσγενεσία έχουν εξωτερικά γεννητικά όργανα θήλεος, μια μικρή παιδόμορφη μήτρα, ωαγωγούς και ταινιοειδείς γονάδες. Στην προαναφερθείσα εργασία των Μιχαλά και συν.<sup>62</sup> αναφέρεται ότι το μέσο μήκος της μήτρας ήταν 6,2 εκατοστά (διακύμανση 4,8-8,2 εκατοστά) και το διάμεσο εμβαδόν διατομής της μήτρας ήταν 15,3 τετραγωνικά εκατοστά (διακύμανση 9,8-21 τετραγωνικά εκατοστά), σαφώς μικρότερο από τον μέσο όρο φυσιολογικών γυναικών που είχα εμβαδόν 23 τετραγωνικά εκατοστά (διακύμανση 16,1-31,7 τετραγωνικά εκατοστά). Τα δευτερεύοντα χαρακτηριστικά του φύλου δεν αναπτύσσονται λόγω απουσίας τόσο των οιστρογόνων όσο και των ανδρογόνων. Οι ταινιοειδείς γονάδες δεν εκκρίνουν τις προαναφερθείσες ορμόνες. Η έλλειψη των οιστρογόνων είναι υπεύθυνη για τους υποπλαστικούς μαστούς, για την στενή πύελο και τους λεπτούς γοφούς και για την πρωτοπαθή αμηνόρροια. Τα επινεφρίδια παράγουν μικρές ποσότητες ανδρογόνων οι οποίες δεν επηρεάζονται από το Σ. Swyer. Οι ποσότητες αυτές των επινεφριδιακών ανδρογόνων είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση μιας ελάχιστης τρίχωσης στο εφήβαιο<sup>73</sup>.

Η ορμονική εξέταση των ασθενών αυτών καταδεικνύει επίπεδα ανδρογόνων αυξημένα σε σχέση με τα φυσιολογικά κορίτσια αλλά μειωμένα σε σχέση με τα αντίστοιχα των φυσιολογικών ανδρών. Τα επίπεδα των οιστρογόνων είναι πολύ χαμηλά ή μη ανιχνεύσιμα. Στις περιπτώσεις που έχουμε παραγωγή οιστρογόνων είτε από τις δυσγενετικές γονάδες ή από κάποιο γοναδοβλάστωμα προκαλείται σύγχυση και καθυστερεί η διάγνωση<sup>74</sup>. Παλαιότερα η διάγνωση καθυστέρουσε να τεθεί ενώ στις μέρες μας τίθεται ενωρίτερα, πιθανότατα λόγω διευρυμένης γνώσης και ευαισθητοποίησης της επιστημονικής κοινότητας στις DSD και στις συνέπειές τους. Η πρώιμη διάγνωση είναι

ζωτικής σημασίας για πολλούς λόγους: πρώτον για την μείωση του κίνδυνου κακοήθους εξαλλαγής, δεύτερον για την έγκαιρη χορήγηση οιστρογόνων προκειμένου να επέλθει ενήβωση, τρίτον για να εφαρμοσθεί η κατάλληλη υποκατάσταση με στόχο την επίτευξη της μέγιστης οστικής μάζας.

Τα ΧΥ κορίτσια έχουν αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης γοναδικών όγκων σε σχέση με τα φυσιολογικά κορίτσια. Επειδή τα αμιγή ΧΥ κορίτσια είναι σπάνια και η πλειοψηφία τους υποβάλλεται σε γοναδεκτομή, είναι πολύ δύσκολο να υπολογισθεί ο ακριβής κίνδυνος κακοήθους εξαλλαγής. Τα άτομα αυτά με αμιγή γοναδική δυσγενεσία έχουν μια αυξημένη προδιάθεση για γοναδικούς όγκους όπως το γοναδοβλάστωμα και το γοναδικό δυσγερίνωμα. Το γοναδοβλάστωμα αποτελείται από αρχέγονα γεννητικά κύτταρα και από παράγωγα της γεννητικής ταινίας. Πιστεύεται ότι προκύπτει από παραμένοντα αδιαφοροποίητο διδύναμο γοναδικό ιστό εντός της δυσγενετικής γονάδας. Αυτός ο ιστός προσομοιάζει με αυτόν που βρίσκεται στην εμβρυονική γονάδα πριν την έκφραση του *SRY* και περιλαμβάνει αρχέγονα γεννητικά κύτταρα διάσπαρτα σε στρώμα και προ-Sertoli – κοκκιώδη κύτταρα<sup>75</sup>. Το γοναδοβλάστωμα αποτελεί ένα νεόπλασμα που σχεδόν πάντα αναπτύσσεται σε έδαφος δυσγενετικής γονάδας και μπορεί να εκδηλωθεί σε νεαρές ηλικίες. Υπάρχει βιβλιογραφική αναφορά με την μικρότερη ηλικία εμφάνισης γοναδοβλαστώματος σε βρέφος 9 μηνών με γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου<sup>76</sup>.

Το γοναδοβλάστωμα αποτελεί καλοήγη όγκο χωρίς μεταστατικό δυναμικό αλλά μπορεί να αποτελέσει υπόστρωμα ανάπτυξης κακοήθους νεοπλασματος από γεννητικά κύτταρα όπως το συνηθέστερο όλων δυσγερίνωμα, το τεράτωμα, το εμβρυονικό καρκίνωμα και οι όγκοι από το μεσόδερμα<sup>77</sup>. Το δυσγερίνωμα εμφανίζεται σε ορισμένες

ασθενείς και δημιουργείται επίσης από αρχέγονα γεννητικά κύτταρα. Το 50% των ασθενών με γοναδοβλάστωμα εμφανίζουν ταυτόχρονα και δυσγερμίνωμα <sup>78</sup>. Δεν υπάρχει ομοφωνία μεταξύ των δημοσιεύσεων για το ποσοστό των ασθενών με Σ. Swyer που εμφανίζει κάποιο όγκο συμπεριλαμβανομένου του γοναδοβλαστώματος. Οι περισσότερες περιγράφουν ένα ποσοστό εκδήλωσης 30% των ατόμων με αμιγή γοναδική δυσγενεσία<sup>79</sup> ενώ σε άλλες αναφέρονται υψηλότερα ποσοστά από 46% <sup>69</sup> έως και 75% <sup>74</sup>. Υπάρχει βιβλιογραφική ομοφωνία ότι η αύξηση της ηλικίας συνδυάζεται με αύξηση της συχνότητας εκδήλωσης γοναδικής νεοπλασίας. Λόγω όλων των παραπάνω οι ασθενείς (και οι γονείς/κηδεμόνες τους) συμβουλεύονται να υποβάλλονται σε γοναδεκτομή αμέσως μετά την διάγνωση του Σ. Swyer. Δεν είναι σπάνιες οι περιπτώσεις όπου η διάγνωση του δυσγερμινώματος προηγείται πολλά χρόνια πριν από την διάγνωση του Σ. Swyer. Τα κορίτσια αυτά αντιμετωπίζονται αρχικά για την νεοπλασία και μετά από χρόνια διερευνώνται για καθυστερημένη ήβη. Η διάγνωση του συνδρόμου αυτού στην παιδική ηλικία είναι πολύ δύσκολη και μπορεί να τεθεί μόνο εάν γίνει χρωμοσωμικός έλεγχος για κάποιο άλλο νόσημα ή στο πλαίσιο διερεύνησης μιας οικογένειας λόγω έτερου πάσχοντος μέλους της. Έχουν περιγραφεί οικογενείς περιπτώσεις του Σ. Swyer <sup>80</sup>.

Η διάγνωση του Σ. Swyer, αλλά και των υπολοίπων DSD στα οποία ένα φαινοτυπικά θήλυ άτομο μαθαίνει ότι ο καρυότυπός του είναι XY, επιφέρει μια ψυχολογική επιβάρυνση στα ίδια και στο οικογενειακό περιβάλλον τους. Η εφηβεία από μόνη της αποτελεί μια στρεσογόνο περίοδο και περιπλέκεται επιπλέον όταν γνωστοποιείται χρωμοσωμικό φύλο αντίθετο από το φαινοτυπικό. Η πλειοψηφία των ασθενών αποδέχεται το γυναικείο φύλο και δηλώνουν ικανοποιημένες από την σεξουαλική τους δραστηριότητα, αν και μικρότερο



ποσοστό εξ αυτών σε σχέση με τις φυσιολογικές γυναίκες, θα δημιουργήσει μακροχρόνιες σχέσεις και θα αναθρέψουν παιδιά.

Συχνά αποτελεί επιπρόσθετη δυσκολία για τα άτομα με αμιγή γοναδική δυσγενεσία να "εξηγήσουν" την κατάστασή τους στους συντρόφους τους και στις οικογένειές τους. Είναι αναγκαία η ειλικρινής ηθική υποστήριξη από τους επαγγελματίες υγείας και από την οικογένειά τους προκειμένου να αποφεύγονται αυτοκτονικοί ιδεασμοί, ψυχολογικά αλλά και ψυχιατρικά προβλήματα που βρίθουν στις ασθενείς αυτές αναλογικά με τον γενικό γυναικείο πληθυσμό<sup>81</sup>. Οι ασθενείς αυτές αλλά και όλες οι ασθενείς με DSD συμβιώνουν καλύτερα με την διάγνωσή τους όταν αποκτήσουν εκτεταμένη λεπτομερή ενημέρωση για την παθογένεια και την φύση του προβλήματός τους. Μειώνονται τα ψυχολογικά προβλήματά τους και διαβιούν καλύτερα την ενήλικη ζωή τους. Πάντα πρέπει να καθοδηγούνται προς διαδικτυακούς τόπους όπου υπάρχουν ομάδες παρομοίως πασχόντων προκειμένου να λαμβάνουν επιπρόσθετη υποστήριξη.

Δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για την νοητική ικανότητα και την εκπαιδευτική δεινότητα των ατόμων αυτών έναντι των υπολοίπων γυναικών. Οι ασθενείς με Σ. Turner, στερούνται ένα τμήμα από το πατρικό χρωμόσωμα X το οποίο είναι υπεύθυνο για την κοινωνική νόηση. Σε αυτό το έλλειμμα έχουν υποθετικά αποδοθεί οι μαθησιακές δυσκολίες στην γλώσσα και στην κοινωνικοποίηση που εμφανίζουν οι ασθενείς με Σ. Turner<sup>82</sup>. Εάν ισχύει αυτή η υπόθεση, παρόμοιες γνωσιακές δυσκολίες θα έπρεπε να αντιμετωπίζουν και οι ασθενείς με Σ. Swyer. Δεν έχουν τεκμηριωθεί μέχρι σήμερα ανάλογες ή αντίθετες πληροφορίες και μέλει να διευκρινισθεί στο μέλλον.

Οι πρωταρχικοί θεραπευτικοί στόχοι για τις ασθενείς με Σ. Swyer αναφέρθηκαν και σε προηγούμενη παράγραφο και συνοψίζονται πρώτον στην εκτέλεση γοναδεκτομής άμεσα μετά την διάγνωση για να μειωθεί ο κίνδυνος κακοήθους εξαλλαγής των γονάδων, δεύτερον στην έγκαιρη χορήγηση οιστρογόνων προκειμένου να επέλθει ενήβωση, και τρίτον στην εφαρμογή της κατάλληλης υποκατάστασης με στόχο την επίτευξη της μέγιστης οστικής μάζας. Τα ορμονικά θεραπευτικά σχήματα πρέπει να χορηγούνται από εξειδικευμένους στο σύνδρομο ιατρούς (ενδοκρινολόγους ή γυναικολόγους) πάντα στο πλαίσιο εξατομίκευσης της δοσολογίας ανάλογα με τις διαπιστούμενες ανάγκες εκάστης ασθενούς.

Την περίοδο συγγραφής του παρόντος πονήματος επικρατέστερη θεωρείται η επαγωγή της ήβης με μια διετή χορήγηση μονοθεραπείας από οιστρογόνα παρόμοια με αυτή που ακολουθείται στις ασθενείς με Σ. Turner που δεν εμφανίζουν αυτόματη ενήβωση. Οι χορηγούμενες δόσεις είναι αρχικά πολύ μικρές και προοδευτικά αυξανόμενες με στόχο την αύξηση του μεγέθους των μαστών, της υποπλαστικής μήτρας και την επίτευξη του γονιδιακά προκαθορισμένου ύψους. Στην συμπλήρωση της διαιτίας ή εάν προκύψει ενωρίτερα κολπική αιμόρροια εκ διαφυγής τότε προστίθετε και ένα προγεσταγόνο. Οι ασθενείς με Σ. Swyer έχουν φυσιολογικά αποκρινόμενο ενδομήτριο με αποτέλεσμα να κινδυνεύουν τόσο από λειτουργικές αιμορραγίες όσο και από υπερπλασία του ενδομητρίου –υπερπλασία με ατυπία – σύνθετη άτυπη υπερπλασία – Ca ενδομητρίου εφόσον λαμβάνουν μακροχρόνια μονοθεραπεία από οιστρογόνα. Οι οδοί χορήγησης της ορμονικής θεραπείας μπορεί να είναι είτε *per os* ή διαδερμικά. Προτιμότερη οδός χορήγησης θεωρείται η διαδερμική μιας και παρακάμπτεται ο ηπατικός μεταβολισμός και

το επακόλουθο φαινόμενο πρώτης διόδου σύμφωνα με το οποίο επηρεάζονται τόσο η ηπατική βιοχημεία όσο και ο καταρράκτης της πήξης του αίματος. Η per os χορήγηση και μάλιστα με την μορφή αντισυλληπτικού δισκίου γίνεται καλύτερα αποδεκτή και είναι προτιμητέα από τις ασθενείς έναντι του αυτοκόλλητου patch είτε διότι το τελευταίο ξεκολλάει εύκολα σε εύκρατα κράτη σαν το δικό μας ή διότι θεωρούν ότι όταν αυτό γίνει αντιληπτό από τους γνωστούς ή φίλους αποτελεί αίτιο σχολιασμού. Οι προτιμήσεις και η συμμορφωσιμότητα εκάστης ασθενούς καθορίζει την οδό χορήγησης της ορμονικής υποκατάστασης.

Η επίτευξη της μεγίστης οστικής μάζας μέχρι την ηλικία των 30 ετών αποτελεί πρωταρχικό θεραπευτικό στόχο για τις ασθενείς αυτές οι οποίες παρά το υψηλότερο ανάστημά τους έναντι του γενικού γυναικείου πληθυσμού εμφανίζουν σε μεγάλο ποσοστό οστεοπενία (αναφέρεται 60% στην δημοσίευση των Μιχαλά και συν.<sup>69</sup>). Συμπληρώματα ασβεστίου και βιταμίνης D με ελεγχόμενη έκθεση στον ήλιο καθώς και γυμναστική με άρση βάρους επικουρούν την ορμονική θεραπεία στην αντιμετώπιση της οστεοπενίας.

Η επίτευξη κύησης με δανεικό ωάριο αποτελεί την λύση της υπογονιμότητας των ασθενών με Σ. Swyer. Η ορμονική προετοιμασία της μήτρας αλλά και η υποστήριξη της κύησης αποτελούν θέμα εξιδεικευμένων κέντρων όπως το Τμήμα Παιδικής Εφηβικής Γυναικολογίας και Επανορθωτικής Χειρουργικής του Αρεταίειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου. Από το κέντρο αυτό δημοσιεύτηκε η πρώτη (συνολικά 11<sup>η</sup> παγκοσμίως) επιτυχής κύηση με συνύπαρξη προϋπάρχουσας αρτηριακής υπέρτασης<sup>83</sup>.

## Αρτηριοσκλήρυνση – Καρδιαγγειακή νόσος

### Εισαγωγή

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα της αθηροσκλήρυνσης είναι η συσσώρευση χοληστερόλης στον έσω χιτώνα του αρτηριακού τοιχώματος. Η διαδικασία αυτή αρχίζει με την συγκέντρωση κυκλοφορούντων μονοκυττάρων από το αίμα. Δια μέσου μορίων συγκόλλησης τα μονοκύτταρα διαπερνούν το αγγειακό ενδοθήλιο, εισδύουν στον έσω χιτώνα, και διαφοροποιούνται προς μακροφάγα. Τα μακροφάγα απορροφούν μόρια οξειδωμένης LDL και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Η συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων στον έσω χιτώνα αποτελεί ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της πλάκας. Τα κύτταρα αυτά υπόκεινται σε κυτταρικό θάνατο και επακόλουθη ρήξη. Μέσω των ανωτέρω διεργασιών η κυκλοφορούσα εξωκυτταρική χοληστερόλη συσσωρεύεται στον έσω χιτώνα της αρτηρίας. Η αθηροσκλήρωση περιλαμβάνει τις ακόλουθες φάσεις:

- I. τη φάση της λιποειδικής γράμμωσης. Οι αρχόμενες βλάβες, δημιουργούν λιποειδικές γραμμώσεις κατά μήκος των μεγάλων αρτηριών, όπως της αορτής και πρωτοεμφανίζονται στην παιδική ηλικία. Οι βλάβες αυτές αποτελούνται από μακροφάγα (τροποποιημένα μονοκύτταρα) τα οποία πληρούνται από LDL χοληστερόλη.
- II. τη φάση της ινώδους πλάκας, κατά την οποία οι αθηροσκληρωτικές βλάβες περιβάλλονται από λεία μυϊκά κύτταρα, μακροφάγα και T-λεμφοκύτταρα. Όσο η πλάκα αυξάνει σε μέγεθος προβάλλει εντός του αγγειακού αυλού και προκαλεί στροβιλώδη ροή του αίματος.

III. τη φάση της επιπλεγμένης πλάκας, η οποία προκύπτει όταν μία ινώδης πλάκα διαρρηγνύεται, με αποτέλεσμα τη διαταραχή της αρχιτεκτονικής του ενδοθηλίου και τη πυροδότηση του καταρράκτη της πήξης τοπικά, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην έμφραξη του αγγείου.<sup>84, 85</sup>

Συνολικά, με την πάροδο του χρόνου, οι βλάβες του αγγειακού τοιχώματος εξελίσσονται και προκαλούν μείωση του εύρους του αυλού των αγγείων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου (CVD) η οποία εμφανίζεται είτε με σταδιακή μείωση της αιματικής ροής, είτε με οξύ σχηματισμό θρόμβου (ο οποίος με τη σειρά του εκδηλώνεται σαν οξύ καρδιαγγειακό σύμβαμα όπως π.χ. το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο).

Παρότι τα δεδομένα κλινικών ερευνών βοηθούν στην αναγνώριση ολοένα και περισσότερων παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου, ακόμα δεν έχει καθορισθεί ο ακριβής αλγόριθμος εξετάσεων, ο οποίος θα αναγνωρίζει με ακρίβεια τα άτομα υψηλού κινδύνου για την νόσο, ώστε να μεγιστοποιηθεί η δυνατότητα έγκαιρης παρέμβασης. Στους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης της νόσου συγκαταλέγονται η ηλικία, το κάπνισμα, το φύλο, η υπέρταση και ο σακχαρώδης διαβήτης, οι οποίοι όμως εντοπίζουν περίπου τα μισά από τα περιστατικά παγκοσμίως.<sup>86</sup>

Όσον αφορά τον ρόλο του φύλου, έχει πλέον αποδειχθεί ότι η πιθανότητα ανάπτυξης αθηρωματικής νόσου είναι πολύ μικρότερη στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες από ότι στους άνδρες παρόμοιας ηλικίας.<sup>87</sup> Μετά την εμμηνόπαυση το “πλεονέκτημα” αυτό των γυναικών σταδιακά χάνεται. Έχει υπολογισθεί ότι η καθυστέρηση στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου των γυναικών κυμαίνεται από 5 έως 10 έτη <sup>88</sup>. Η

λογικότερη εξήγηση για το γεγονός αυτό είναι η προστατευτική δράση των οιστρογόνων κατά την διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου της γυναίκας. Η μελέτη του Framingham επεξεργάστηκε δεδομένα διάρκειας 20 ετών και κατέδειξε σημαντικά μειωμένη επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έναντι των μετεμμηνοπαυσιακών, ανεξάρτητα από την ηλικία τους.<sup>89</sup> Σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, τα ωοθυλάκια εκκρίνουν 70 – 500 μg οιστραδιόλης ημερησίως, προκαλώντας αλλαγές στα επίπεδα πλάσματος με εύρος από 210 pmol/L στην αρχική ωοθυλακική φάση, έως 490 pmol/L στο τέλος της ωχρινικής φάσης. Στην κλιμακτήριο, τα επίπεδα αυτά υποχωρούν στο 20% των επιπέδων της αναπαραγωγικής ηλικίας. Για κάθε έτος παραμονής στην κλιμακτήριο και καθυστέρησης της εμμηνόπαυσης, ο κίνδυνος για θάνατο από καρδιαγγειακή νόσο μειώνεται κατά 2%.

Στις δυτικές κοινωνίες, η μέση ηλικία εμμηνόπαυσης είναι τα 51 έτη.<sup>90</sup> Έλευση της εμμηνόπαυσης νωρίτερα, είτε ιδιοπαθώς είτε λόγω ιατρογενών αιτιών (π.χ. ωθηκεκτομή) θεωρητικά θα έπρεπε να συσχετίζεται με αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Τα αποτελέσματα όμως των αρχικών κλινικών ερευνών είναι αλληλοσυγκρουόμενα και μερικές φορές μη στατιστικά σημαντικά.<sup>91</sup> Πιθανή αιτία για αυτό είναι το χαμηλό μέγεθος του δείγματος αυτών των ερευνών, αλλά και διαφορές στον σχεδιασμό τους. Σύμφωνα με τη μελέτη του Framingham γυναίκες που μπαίνουν σε εμμηνόπαυση μεταξύ 45 και 49 έτη, ή που υπόκεινται σε αμφοτερόπλευρη ωθηκεκτομή ανάμεσα στα 40 και 44 έτη, έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν στεφανιαία νόσο σε σχέση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες της ίδιας ηλικίας.<sup>92</sup> Στην Nurses' Health Study όμως δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του χρόνου από την φυσική εμμηνόπαυση και της

ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου, ενώ κατεδείχθη αυξημένος κίνδυνος σε γυναίκες με αμφοτερόπλευρη ωθηκεκτομή που δεν έλαβαν θεραπεία υποκατάστασης έναντι αυτών που έλαβαν. Νεότερη ανάλυση των δεδομένων της ίδιας έρευνας, περιορισμένη σε γυναίκες με φυσική εμμηνόπαυση που δεν είχαν λάβει ποτέ θεραπεία υποκατάστασης, κατάφερε να δείξει ότι η νεότερη ηλικία εμμηνόπαυσης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου.<sup>93</sup> Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δημοσιευθεί και από μια έρευνα με 30ετή παρακολούθηση η οποία διερεύνησε την σχέση μεταξύ ηλικίας φυσικής εμμηνόπαυσης και θανάτου από στεφανιαία νόσο.<sup>94</sup>

Στην έρευνα των Joakimsen και συν. περισσότερες από 2500 γυναίκες εκτιμήθηκαν μέσω υπερήχων. Βρέθηκε ότι όσο μικρότερη ήταν η ηλικία εμμηνόπαυσης τόσο σοβαρότερη ήταν η αθηρωμάτωση των καρωτίδων.<sup>95</sup> Συνοψίζοντας, μεγάλος όγκος ερευνητικών δεδομένων εισηγείται ότι τα ενδογενή οιστρογόνα παρέχουν προστασία έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

### Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης (ΘΟΥ) και Αθηρωματική νόσος

Τα αρχικά δεδομένα από μελέτες παρατήρησης κατεδείκνυαν ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που ελάμβαναν ΘΟΥ είχαν μικρότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου.<sup>96,97</sup> Η αναλυτικότερη όλων, η Nurses' Health Study, συμπεριέλαβε 70.000 γυναίκες οι οποίες παρακολουθήθηκαν για χρονικό διάστημα 20 ετών. Μετά από στάθμιση για ηλικία και άλλους παράγοντες κινδύνου, κατέδειξε σχετικό κίνδυνο για μείζον καρδιαγγειακό σύμβαμα της τάξης του 0.61. Επιπλέον αναφέρθηκε ότι η μεγαλύτερη

διάρκεια θεραπείας συσχετίστηκε με μικρότερο όφελος έναντι της νόσου. Ο κίνδυνος για ισχαιμικό (και όχι για αιμορραγικό) εγκεφαλικό επεισόδιο αποδείχθηκε αυξημένος στις λήπτριες έναντι των γυναικών που δεν είχαν λάβει ποτέ ΘΟΥ.<sup>98</sup> Σε σημείο αυτό αξίζει να αναφερθούν πιθανά σφάλματα της έρευνας αυτής. Γυναίκες που λαμβάνουν ΘΟΥ τείνουν να ανήκουν σε ομάδες ανώτερου κοινωνικοοικονομικού επιπέδου με πιο ευνοϊκό προφίλ καθημερινών δραστηριοτήτων. Έτσι είναι πολύ πιθανό το αποτέλεσμα των ερευνών να αντικατοπτρίζει το προφίλ της “υγειούς γυναίκας” η οποία φροντίζει μεταξύ άλλων και να διατηρεί έναν υγιεινό τρόπο ζωής έχοντας και αυξημένη συμμορφωσιμότητα προς τις συστάσεις των θεραπόντων ιατρών.<sup>99</sup>

Στην εργασία των Grady D, και συν.<sup>96</sup> δεν κατέστη δυνατόν να αποδειχθεί η προστασία έναντι της περαιτέρω εξέλιξης της στεφανιαίας νόσου σε γυναίκες με ήδη εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο. Στην δεύτερη εργασία των Barrett-Connor E & Grady D.<sup>97</sup> διεφάνη ότι μετά από πενταετή χορήγηση ΘΟΥ, αυξήθηκαν τόσο τα περιστατικά στεφανιαίας νόσου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [που ελάμβανε εικονικό φάρμακο (placebo)], όσο και ο κίνδυνος για εγκεφαλικό επεισόδιο. Παρά το γεγονός ότι η αύξηση ήταν υπαρκτή, πρέπει να τονιστεί ότι αντιστοιχούσε σε μικρό απόλυτο αριθμό περιστατικών (7-8 περιστατικά/10.000 γυναίκες ανά έτος), και ότι η προκύπτουσα αύξηση εξαρτιόταν από την ηλικία χορήγησης, με τις γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας να έχουν υψηλότερο κίνδυνο. Κυριότερο αίτιο της αύξησης, θεωρήθηκε η προθρομβωτική δράση που ασκούν τα σκευάσματα αυτά κατά τα αρχικά χρόνια λήψης. Στη μελέτη WHI, οι ασθενείς που έλαβαν μεμονωμένα συνεξευγμένα οιστρογόνα δεν εμφάνισαν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου σε σύγκριση με την ομάδα placebo, θέτοντας την



υποψία ότι μπορεί να ευθύνεται το προγεσταγόνο που συμπεριλαμβάνεται στο χορηγούμενο σκεύασμα.

Στα τέλη της δεκαετίας του 90 η προστατευτική επίδραση της ορμονικής θεραπείας στον καρδιαγγειακό κίνδυνο άρχισε να αμφισβητείται από τα αποτελέσματα της μελέτης HERS (Heart and Estrogen/progestin Replacement Study). Η HERS απετέλεσε την πρώτη μεγάλη διπλή-τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη για την δευτερογενή πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου σε γυναίκες που ήδη νοσούσαν (π.χ. από στεφανιαία νόσο).<sup>100</sup> Από το 2000 έως το 2003 δημοσιεύτηκαν ακόμα 4 μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες, τα αποτελέσματα των οποίων απέρριψαν ολοκληρωτικά την υπόθεση ότι η χορήγηση ορμονικής θεραπείας μπορεί να λειτουργήσει προστατευτικά έναντι της στεφανιαίας και της αγγειακής εγκεφαλικής νόσου σε γυναίκες με ήδη εγκατεστημένη αθηρωματική νόσο.

<sup>101</sup>, <sup>102</sup>, <sup>103</sup>, <sup>104</sup>

Λόγω των προαναφερθέντων αποτελεσμάτων η American Heart Association (AHA) καθώς και η Medicines and Health care Products Regulatory Agency (MHRA) εξέδωσαν κατευθυντήριες οδηγίες που συστήνουν αποφυγή χορήγησης ΘΟΥ σε εμμηνόπαυσιακές γυναίκες με σκοπό την πρωτογενή και δευτερογενή πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου επί απουσίας άλλων ενδείξεων. Νεότερες έρευνες έχουν στραφεί προς την αξιολόγηση της πιθανής καρδιοπροστατευτικής δράσης της ΘΟΥ σε γυναίκες δίχως τεκμηριωμένη αθηρωματική νόσο.

## Οιστρογόνα και ενδοθήλιο

Το ενδοθήλιο αποτελεί το διαχωριστικό όριο μεταξύ του αγγειακού τοιχώματος και του αίματος, διαδραματίζοντας καθοριστικό ρόλο στην φυσιολογία του κυκλοφορικού <sup>105</sup>. Αποτελεί έναν από τους κύριους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του καταρράκτη της πήξεως, ρυθμίζει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων ως απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα, την διατοιχωματική μετακίνηση κυττάρων, υγρών και διαλυτών ουσιών, συμμετέχει στην ρύθμιση του αγγειακού τόνου, αλλά και στην ανάπτυξη των αγγείων αυτών καθαυτών. Διαδραματίζει καίριο ρόλο στην παθογένεια και την εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου. Όλες οι αλλαγές που επισυμβαίνουν στην έναρξη της αθηρωματικής νόσου έχουν σαν αφετηρία την βλάβη του ενδοθηλίου σε μορφολογικό και λειτουργικό επίπεδο. Ακόμα, παρεμφερείς αλλαγές της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο συμμετέχουν στην τοπική φλεγμονή της αθηρωματικής πλάκας η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ρήξη αυτής και σε εκδήλωση οξέων θρομβωτικών συμβαμάτων. Καθίσταται αναγκαία και εύλογη η κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων τα ενδογενή οιστρογόνα προσφέρουν καρδιο-αγγειο-προστατευτική δράση ειδικότερα όταν αυτά (τα ενδογενή οιστρογόνα) δρουν στο αγγειακό ενδοθήλιο.

Οι πολυάριθμες δράσεις των οιστρογόνων στο ενδοθήλιο πραγματοποιούνται τόσο μέσω γενωμικών όσο και μέσω μη-γενωμικών μηχανισμών. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η τροποποίηση της αγγειακής λειτουργίας και της φλεγμονώδους απάντησης, ασκώντας δράση σε μεταβολικό και αιμοδυναμικό επίπεδο. Η οιστραδιόλη δρα κυρίως μέσω

σύνδεσης και ενεργοποίησης των οιστρογονικών υποδοχέων (ERs). Τα οιστρογόνα παίζουν καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο της αγγειακής λειτουργίας, και η δράση τους επιτυγχάνεται μέσω τριών διαφορετικών τύπων υποδοχέων τόσο στα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς διακρίνονται σε υπότυπους ERα και ERβ<sup>106,107</sup> και διαφέρουν όχι μόνο στην εντόπισή τους, αλλά και στο προφίλ δράσης τους (ως αγωνιστές ή ανταγωνιστές) αναλόγως του υποστρώματος στο οποίο δρουν<sup>108</sup>. Οι δύο αυτοί υπότυποι ανήκουν στην οικογένεια των ενδοπυρηνικών υποδοχέων λειτουργώντας όταν ενεργοποιηθούν σαν μεταγραφικοί παράγοντες (γενωμικός μηχανισμός δράσης). Η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων από τις ανάλογες ορμόνες επηρεάζει την έκφραση γονιδίων που ελέγχονται από estrogen-response elements και ρυθμίζει την μετέπειτα μεταγραφική διαδικασία.<sup>109</sup> Η προαναφερθείσα ρύθμιση των γονιδίων από τα οιστρογόνα που συνδέονται στους υποδοχείς ERα και ERβ εξαρτάται τόσο από το χρόνο όσο και από το είδος του ιστού στον οποίο γίνεται η δράση<sup>110</sup>. Στο καρδιαγγειακό σύστημα, έχουν ανιχνευθεί τόσο ο ERα όσο και ο ERβ στο ενδοθήλιο, στα λεία μυϊκά κύτταρα και στις αδρενεργικές απολήξεις των νεύρων των αγγείων<sup>111, 112, 113, 114</sup>. Παρόλο που η παρουσία του υποδοχέα ERα έχει αμφισβητηθεί σε in vitro πειράματα σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων<sup>115</sup>, άλλοι ερευνητές έχουν αποδείξει την ύπαρξη mRNA που προέρχεται από τα γονίδια που κωδικοποιούν τόσο τον ERα όσο και τον ERβ στο ενδοθήλιο<sup>116,117</sup>. Επιπλέον της δράσης τους στον πυρήνα, οι υποδοχείς των οιστρογόνων πιστεύεται ότι έχουν σαν στόχο και την πλασματική μεμβράνη, δίνοντας στα οιστρογόνα την δυνατότητα να ελέγχουν “διακυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια”, συμπεριλαμβανομένης της αντλίας ιόντων

ασβεστίου και της κινάσης της 3-φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI3K)<sup>118</sup> (μη γενωμικός μηχανισμός δράσης). Τέλος, ένας τρίτος τύπος υποδοχέα οιστρογόνων έχει περιγραφεί, του οποίου η δράση είναι συνδεδεμένη με G-πρωτεΐνες και ανευρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η αρχική του ονομασία ήταν GPR30, ενώ αργότερα μετονομάστηκε σε GPER<sup>119, 120</sup>. Ο συγκεκριμένος υποδοχέας εκφράζεται τόσο σε ενδοθηλιακά όσο και σε λεία μυϊκά κύτταρα στα αιμοφόρα αγγεία, ενώ δράσεις που παλαιότερα αποδίδονταν στον ERα, πλέον αποδίδονται σε αυτόν (μη γενωμικός μηχανισμός δράσης)<sup>121, 122, 123</sup>.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα οιστρογόνα ασκούν την προστατευτική τους δράση είναι πολυάριθμοι και μπορεί να είναι είτε άμεσοι είτε έμμεσοι. Ένα παράδειγμα έμμεσης προστασίας του αγγειακού ενδοθηλίου που μπορούν να προσφέρουν τα οιστρογόνα προκύπτει από την δράση τους στον μεταβολισμό των λιπιδίων, ενώ άμεση προστασία προκύπτει από την απευθείας δράση τους πάνω στους μοριακούς μηχανισμούς ρύθμισης του ενδοθηλίου.<sup>124</sup> Όσον αφορά στον μεταβολισμό των λιπιδίων, οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών, φαίνεται πως είναι το αποτέλεσμα ενός πολύπλοκου δικτύου ορμονικών δράσεων σε συνδυασμό με άλλους τροποποιητικούς μηχανισμούς του μεταβολισμού των λιπιδίων. Η ακριβής φύση αυτών των μηχανισμών δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη σαφώς, όμως μεταξύ άλλων έχουν προταθεί μηχανισμοί που σχετίζονται με την ινσουλίνη και τις αντιποκίνες,<sup>125</sup> και διαφορετική έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων.<sup>126</sup> Συγκεκριμένα για την ινσουλίνη έχει προταθεί ότι αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή του μεταβολισμού των λιπιδίων. Έχει δειχθεί διαφορά στην δράση της ινσουλίνης τόσο στον μεταβολισμό της γλυκόζης όσο και στην

λειτουργία των μυών<sup>127</sup> μεταξύ των δύο φύλων, και ως εκ τούτου πιθανολογείται ότι παρόμοιες διαφορές πρέπει να επισυμβαίνουν και στον ινσουλινοεξαρτώμενο μεταβολισμό των λιπιδίων. Η θεωρία ότι οι παρατηρούμενες διαφορές στο λιπιδαιμικό προφίλ μπορεί να πηγάζουν από τις διαφορές του σωματότυπου και της κατανομής του λιπώδους ιστού δεν έχουν αποδειχθεί, ενώ σε μελέτες μεταξύ ανδρών και γυναικών σταθμισμένες για το ποσοστό λίπους οι διαφορές στο λιπιδαιμικό προφίλ παραμένουν . Όμως παρόλα αυτά, ο μεταβολισμός των λιπιδίων, φαίνεται να επηρεάζεται διαφορετικά από την αύξηση του λιπώδους ιστού στους άνδρες και στις γυναίκες. Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί για όλες τις ανωτέρω διαφορές δεν έχουν ακόμα ξεκαθαριστεί ώστε να προσδιοριστεί επακριβώς ο τρόπος με τον οποίο τα ενδογενή οιστρογόνα διαμορφώνουν ευνοϊκότερες συγκεντρώσεις λιπιδίων στο αίμα και οδηγούν σε μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης αθηρωματικής νόσου στις γυναίκες.

Ένας από τους κυριότερους διαμεσολαβητές της ενδοθηλιακής ρύθμισης είναι το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και εμπλέκεται στους μηχανισμούς της αγγειοδιαστολής, της αναστολής της θρόμβωσης, καθώς και της ρύθμισης της κυτταρικής μετανάστευσης και του πολλαπλασιασμού <sup>128, 129, 130</sup>. Όσον αφορά στον ρόλο της οιστραδιόλης στην ενδοθηλιακή λειτουργία, έχει προταθεί ότι δρα αυξάνοντας την συγκέντρωση του NO, με διάφορους μηχανισμούς: 1) παρεμβαίνοντας στην ρύθμιση του γονιδίου της συνθετάσης του NO, αυξάνοντας την έκφρασή του <sup>131, 132</sup>, 2) ενεργοποιώντας το ένζυμο αυτό μέσω του μονοπατιού της PI3K/β φωσφοκινάσης (PKB/AKT)<sup>133</sup>, 3) αυξάνοντας την συγκέντρωση του ελεύθερου Ca<sup>2+</sup> στα ενδοθηλιακά κύτταρα, 4) μειώνοντας την παραγωγή της ασύμμετρης διμεθυλ-αργινίνης (ADMA) που αποτελεί τον ενδογενή

αναστολέα του γονιδίου eNOS και 5) μειώνοντας την συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου <sup>134, 135, 136</sup>. Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός θα μπορούσε να είναι η ελάττωση του ρυθμού μεταβολισμού του NO, καθώς δεδομένα από μελέτες in-vitro έδειξαν μειωμένη παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species – ROS) σε ενδοθηλιακά κύτταρα μετά την επώαση με οιστρογόνα. Καθώς οι ROS αντιδρούν με το NO σχηματίζοντας περόξυ-νιτρίτη, συνεπάγεται ότι η μείωση των ROS οδηγεί σε μειωμένο μεταβολισμό του NO <sup>137, 138</sup>. Έχει προταθεί και ο μηχανισμός της απορρόφησης των ROS από τα μόρια των οιστρογόνων 17β-οιστραδιόλη, οιστρόνη και οιστριόλη, όμως αυτό συμβαίνει σε υψηλές συγκεντρώσεις in vitro που δεν απαντώνται στον ανθρώπινο οργανισμό <sup>139, 140, 141, 142</sup>. Πιθανότερος μηχανισμός για τη δράση των ROS αποτελεί η αλληλεπίδραση των ER με γονίδια που ρυθμίζουν την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως της καταλάσης και της υπεροξειδικής δισμουτάσης <sup>143, 144, 145</sup>. Επιπλέον, τα οιστρογόνα τροποποιούν την παραγωγή αγγειοδιασταλτικών παραγόντων όπως η προσταγλανδίνη I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>), αλλά και αναστέλλοντας την κυκλοοξυγενάση (COX) η οποία παράγει αγγειοσυσπαστικές ουσίες συμπεριλαμβανομένης της προσταγανδίνης H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) και της θρομβοξάνης A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) <sup>146, 147, 148</sup>. Ακόμα, τα οιστρογόνα ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο μέσω μη γενωμικών μονοπατιών, δρώντας στην αντλία ιόντων ασβεστίου και μετακινώντας ιόντα ασβεστίου απευθείας στα λεία μυϊκά κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος. Συγκεκριμένα, η απευθείας αλληλεπίδραση της οιστραδιόλης με τη β-υπομονάδα του διαύλου maxi-K<sup>+</sup>, έχει υποτεθεί ότι μπορεί να αποτελεί τον υποκείμενο μηχανισμό <sup>149</sup>. Τέλος, τα οιστρογόνα επιδρούν άμεσα στο σύστημα της Ρενίνης και της Αγγειοτενσίνης, το οποίο αποτελεί βασικό ρυθμιστή της αρτηριακής πίεσεως και της

ανάπτυξης των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων. Η παραγωγή της Αγγιοτενσίνης II (που αποτελεί και τον βασικό διαμεσολαβητή του συστήματος) μειώνεται κάτω από την επίδραση των οιστρογόνων μέσω της αναστολής έκφρασης του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγιοτενσίνης (ACE - Angiotensin Converting Enzyme). Σε μοντέλα πειραματόζων για την εμμηνόπαυση, η χρόνια χορήγηση οιστρογόνων μειώνει την δραστηριότητα του ACE τόσο στην κυκλοφορία όσο και σε όργανα όπως η καρδιά και οι νεφροί. Επιπλέον τα οιστρογόνα μειώνουν τόσο την έκφραση όσο και την κυτταρική απάντηση του υποδοχέα της Αγγιοτενσίνης I (AT1) στην αορτή τους νεφρούς και την καρδιά <sup>150, 151, 152, 153</sup>.

## Η χρήση αντιπροσωπευτικών δεικτών στην μελέτη της αρτηριοσκλήρυνσης

Η καρδιαγγειακή νόσος παρά τις πρόσφατες εξελίξεις στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της, παραμένει ένα από τα κυριότερα αίτια νοσηρότητας και θνητότητας σε ενήλικες στις δυτικές κοινωνίες. Επιφέρει σημαντική οικονομική επιβάρυνση στο σύστημα υγείας, γεγονός που κάνει απαραίτητη την ανάπτυξη νέων στρατηγικών πρώιμης διάγνωσης και αντιμετώπισής της. Η αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων που χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση της νόσου, παραδοσιακά αξιολογείτο με την εκτίμηση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων που συνέβαιναν κατά το χρονικό διάστημα της μελέτης. Τέτοιου είδους μελέτες απαιτούν την παρακολούθηση ενός μεγάλου αριθμού ασθενών για μακροχρόνιο διάστημα προκειμένου να ανιχνευθούν τυχόν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Γι' αυτό το λόγο η επιστημονική κοινότητα αναζήτησε μετρήσιμους αντιπροσωπευτικούς δείκτες οι οποίοι θα μπορούσαν να έχουν υψηλή προγνωστική αξία για την πρόβλεψη μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων, στοχεύοντας έτσι στην μείωση του απαιτούμενου χρονικού διαστήματος για την εκτέλεση της μελέτης. Έτσι η χρήση τέτοιων δεικτών στην έρευνα βοηθούν στην ταχύτερη ανάπτυξη νέων θεραπειών, μειώνοντας το συνολικό κόστος.

Έχουν προταθεί τρία κριτήρια, προκειμένου ένας δείκτης να είναι επαρκής για να χρησιμοποιηθεί ως αντιπροσωπευτικός: α) πρέπει να είναι ευκολότερο να μετρηθεί από ότι τα κλινικά συμβάντα τα οποία αντιπροσωπεύει, β) πρέπει να υπάρχει σαφής τεκμηρίωση της συσχέτισης μεταξύ του δείκτη και των αντίστοιχων συμβαμάτων και γ) πρέπει να παρέχει μία αντικειμενική εκτίμηση του κλινικού οφέλους που προκύπτει από



την βελτίωσή του. <sup>154</sup> Από στατιστικής απόψεως, τα κριτήρια του Prentice δηλώνουν ότι: η εξεταζόμενη παρέμβαση θα πρέπει να επηρεάζει τόσο το υπό μελέτη νόσημα, όσο και τον αντιπροσωπευτικό δείκτη, ο δείκτης και το νόσημα θα πρέπει να βρίσκονται σε σχέση αλληλεξάρτησης αλλά και να τα συνδέει σχέση αίτιου – αιτιατού. <sup>155, 156</sup>

Η αρτηριοσκλήρυνση, που προκαλείται από την συσσώρευση λιπιδίων, ασβεστίου, κυττάρων του ανοσοποιητικού και άλλων ουσιών κάτωθεν του ενδοθηλίου των αγγείων, κλινικά εκδηλώνεται είτε με χρόνια ανεπάρκεια των προσβεβλημένων οργάνων είτε με την εκδήλωση οξέων συμβαμάτων <sup>157</sup>. Η εξέλιξη της αρτηριοσκλήρυνσης οδηγεί σε εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων και έτσι οι δείκτες που συσχετίζονται με την εξέλιξη της αποτελούν “ιδανικούς αντιπροσωπευτικούς δείκτες” για την μελέτη της καρδιαγγειακής νόσου και την αξιολόγηση μεθόδων θεραπευτικών παρεμβάσεων. Ένας τέτοιος δείκτης που είχε αρχικά χρησιμοποιηθεί ήταν η στεφανιογραφία, η οποία όμως παρέχει δισδιάστατες εικόνες του μεγέθους του ελεύθερου αυλού των στεφανιαίων αγγείων της καρδιάς, χωρίς όμως να δίνει την δυνατότητα μελέτης του ίδιου του τοιχώματος των αγγείων. Είναι προφανές ότι η στεφανιογραφία δεν δύναται να ανιχνεύσει διαφορές στα αρχικά στάδια της αγγειακής βλάβης.<sup>158,159</sup> Γι’ αυτό το λόγο έχουν αναπτυχθεί νέες μέθοδοι, οι οποίες δύνανται να ανιχνεύσουν διαφορές, τόσο στην ανατομική όσο και στη λειτουργική κατάσταση του ενδοθηλίου και κατ’ επέκταση του αγγειακού τοιχώματος, με την μέτρηση κυρίως βιοχημικών και υπερηχογραφικών παραμέτρων. <sup>160,161</sup>

## Η Χοληστερόλη οδηγεί σε Αθηροσκλήρυνση. Υπάρχει οιστρογονική τροποποίηση?

Η παλαιότερη αναφορά, που αφορά στην εκδήλωση στεφανιαίας νόσου και εμφραγμάτων μυοκαρδίου στις γυναίκες, χρονολογείτε 3500 χρόνια και προέρχεται από την Αρχαία Αίγυπτο όπως πρόσφατα δημοσιεύτηκε<sup>162</sup>. Ήδη από το 1802, ο William Heberden πρώτος περιέγραψε τις διαφορές της στηθάγχης, ως σύμπτωμα στεφανιαίας νόσου, μεταξύ ανδρών και γυναικών<sup>163</sup>. Το προσδόκιμο επιβίωσης των γυναικών έχει αυξηθεί κατά 60% από 50 ετών το 1900 σε 81,7 στην σύγχρονη εποχή<sup>164</sup>. Ακόμα και στις ημέρες μας, με την αλματώδη ανάπτυξη της ιατρικής, η στεφανιαία νόσος παραμένει υπεύθυνη για τους μισούς περίπου θανάτους στις βιομηχανοποιημένες χώρες, ενώ παράλληλα αυξάνει τα ποσοστά της και στις αναπτυσσόμενες χώρες<sup>165</sup>.

Η ευθεία συσχέτιση των επιπέδων χοληστερόλης με την στεφανιαία νόσο, έχει αναδειχθεί μέσω επιδημιολογικών μελετών, τόσο στον γενικό πληθυσμό<sup>166</sup>, όσο και σε ασθενείς με γονιδιακές μεταλλάξεις που αφορούν στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτών των γονιδιακών νοσημάτων αποτελούν η μετάλλαξη του υποδοχέα της LDL <sup>167</sup> και η νόσος Tagnier <sup>168</sup>. Και στις δύο έχει αποδειχθεί η ευθεία σχέση μεταξύ χοληστερόλης και CVD. Οι στατίνες αποτελούν την χαρακτηριστικότερη ομάδα φαρμάκων για την μείωση της χοληστερόλης, με στόχο τόσο την πρωτογενή όσο και την δευτερογενή πρόληψη της στεφανιαίας νόσου <sup>169</sup>. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον γεγονός αποτελεί η πρόσφατη αναφορά ότι οι στατίνες μειώνουν τα αγγειοκινητικά συμπτώματα της χειρουργικής εμμηνόπαυσης, και τα οποία είναι παρόντα στην πλειονότητα των περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών <sup>170</sup>.

Οι στατίνες και τα οιστρογόνα μοιράζονται έναν μεγάλο αριθμό κοινών δράσεων στο αγγειακό σύστημα. Εκτός της μείωσης των λιπιδίων, αναστέλλουν την φλεγμονή<sup>171</sup>, αυξάνουν την δραστηριότητα της συνθετάσης του πρωτοξειδίου του αζώτου (NO), αναστέλλουν την δράση της ενδοθηλίνης-1 ως αγγειοσυσπαστικός και ως αυξητικός παράγοντας, και τέλος παρεμποδίζουν την αύξηση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων<sup>172</sup>. Λόγω των προαναφερθέντων τα οιστρογόνα συχνά χαρακτηρίζονται ως “ενδογενής στατίνες”.

Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες προστατεύονται ευρύτατα από νοσήματα όπως η στεφανιαία νόσος, η αρτηριακή υπέρταση, ο διαβήτης, η παχυσαρκία και η δυσλιπιδαιμία<sup>173</sup>. Κατ’ αντιστοιχία η ωοθηκεκτομή οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης<sup>174</sup>. Οι υψηλές συγκεντρώσεις οιστρογόνων, και πιο συγκεκριμένα της 17β-οιστραδιόλης, σχετίζονται με ευνοϊκό λιπιδαιμικό προφίλ αυξάνοντας την HDL και ταυτόχρονα μειώνοντας την LDL<sup>175</sup>. Στην πραγματικότητα τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων σχετίζονται στενά με την αρτηριακή πίεση, τα επίπεδα της κυκλοφορούσας ενδοθηλίνης-1, την βιοδιαθεσιμότητα του NO, την ελαστικότητα των αρτηριών, καθώς επίσης και με τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα των HDL, LDL και τριγλυκεριδίων<sup>176</sup>.

Η διαφορά στο μέγεθος της καρδιάς και η διαφορά στο εύρος του αυλού των στεφανιαίων αγγείων μεταξύ ανδρών και γυναικών, αποτελούν υποτιμημένες παραμέτρους αξιολόγησης για την διαφορετική συχνότητα της στεφανιαίας νόσου μεταξύ των δύο φύλων. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι αποτιτανώσεις των στεφανιαίων, οι οποίες αναγνωρίζονται με την πρόοδο της ηλικίας ακόμα και σε υγιή ασυμπτωματικά άτομα. Οι

γυναίκες εμφανίζουν μόνο το 30% των στεφανιαίων αποτιτανώσεων σε σχέση με τους άντρες αντίστοιχης ηλικίας ακόμα και στην ηλικία των 80 ετών<sup>177</sup>. Πιθανή ερμηνεία αυτής της παρατήρησης δεν αποτελεί μόνο η διαφορετική ανατομία των στεφανιαίων αλλά και η προστατευτική δράση των οιστρογόνων κατά την αναπαραγωγική ηλικία όποτε και επισυμβαίνει προστασία των αγγείων μέσω του ευεργετικού λιπιδαιμικού προφίλ. Η διαδικασία των αποτιτανώσεων των αγγείων είναι εξαρτώμενη από τα λιπίδια και η χορήγηση στατινών μπορεί να την παρεμποδίσει<sup>178</sup>. Η δράση των οιστρογόνων στα αγγεία φαίνεται ότι συμβάλει στο μειωμένο ποσοστό των στεφανιαίων αποτιτανώσεων. Πειραματικές μελέτες παρουσιάζουν παρόμοια αποτελέσματα μετά από χρήση SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators) επιλεκτικών τροποποιητών των οιστρογονικών υποδοχέων<sup>179</sup>.

Στην μελέτη PDAY (Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth) συνεκρίθησαν άνδρες και γυναίκες παρόμοιας ηλικίας και βρέθηκε ότι οι νεαρές γυναίκες δεν εμφανίζουν αθηρωματικές πλάκες στα στεφανιαία αγγεία. Ενώ στους άνδρες, η παχυσαρκία προήγαγε την ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας, δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη ανάπτυξη στις γυναίκες<sup>180</sup>. Φαίνεται πως τα ενδογενή οιστρογόνα επέδρασαν ευεργετικά στο λιπιδαιμικό προφίλ, στην φλεγμονή και στον πολλαπλασιασμό των αγγειακών κυττάρων. Όλα τα παραπάνω ήταν ικανά να παρεμποδίσουν την δημιουργία πλάκας ακόμα και στην παρουσία παθολογικών καταστάσεων όπως η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη<sup>181</sup>. Κατά την έλευση της εμμηνόπαυσης γίνονται διακριτοί πολλαπλοί παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάματα. Η έλλειψη των οιστρογόνων διευκολύνει την εκδήλωση αντίστασης στην ινσουλίνη, τον διαβήτη, την

δυσλιπιδαιμία, και την αρτηριακή υπέρταση. Συχνά αυξάνεται ο Δείκτης Σωματικής Μάζας (BMI) και οδηγείτε η γυναίκα στην παχυσαρκία <sup>182</sup>. Είναι σημαντικό ότι η θεραπεία της παχυσαρκίας στην εμμηνόπαυση, συχνά βελτιώνει έως και ανακόπτει πλήρως τα προαναφερόμενα φαινόμενα. Αξίζει τέλος να τονισθεί ότι όλα τα παραπάνω δυστυχώς ισχύουν και στην παιδική ηλικία μιας και σε αυτή την περίοδο εκλείπουν τα οιστρογόνα <sup>183</sup>.

Στις μέρες μας υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που προάγουν την θεωρία ότι δεν αρκεί μόνο η σωστή λειτουργία της ωοθήκης και άρα και η επαρκής παραγωγή οιστρογόνων για την καλή κατάσταση των αγγείων της γυναίκας αλλά και το αντίθετο. Δηλαδή για την καλή λειτουργία της ωοθήκης και την επαρκή παραγωγή στεροειδών ορμονών είναι απαραίτητη η σωστή αιμάτωση των ωοθηκών. Μάλιστα από την άρση της επαρκούς ωοθηκικής αιμάτωσης πιθανά καθορίζεται και η έλευση της εμμηνόπαυσης<sup>184</sup>. Οι γυναίκες με πτωχή αγγειακή υγεία λόγω παραγόντων όπως το υπερβολικό κάπνισμα, η δυσλιπιδαιμία και ο σακχαρώδης διαβήτης έχουν αυξημένες πιθανότητες να βιώσουν την εμμηνόπαυση σε μικρότερη ηλικία και άρα να στερηθούν την προστατευτική κυκλοφορία των ενδογενών οιστρογόνων. Από όλα τα παραπάνω συνάγεται το συμπέρασμα ότι, η συνολική υγεία των αγγείων στην αναπαραγωγική ηλικία αποτελεί έναν καθοριστικό παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάματα στην μετεμμηνόπαυσιακή περίοδο της γυναίκας, μέσω της άμεσης δράσης της πρώτης (της υγείας των αγγείων) στην ωοθηκική παραγωγή των αθηροπροστατευτικών οιστρογόνων.

## Οιστρογόνα και αθηρογένεση

Πριν ακριβώς έναν αιώνα το 1913, οι Nikolai Anichkov και Semen Chalaton δημοσίευσαν τα αποτελέσματα μιας μελέτης στην οποία διαφαινόταν η ευθεία αιτιολογημένη συσχέτιση της χοληστερόλης του πλάσματος με την αθηροσκλήρυνση <sup>185</sup>. Οι αθηροσκληρωτικές βλάβες αναπτύσσονται στον έσω χιτώνα της αρτηρίας και χαρακτηριστικό γνώρισμα τους αποτελεί η συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά ενδέχεται να υποστούν ρήξη μετά τον κυτταρικό θάνατο τους. Μέσω αυτής της διεργασίας (κυτταρικού θανάτου και ρήξης) συσσωρεύετε στην πλάκα η εξωκυτταρική χοληστερόλη. Οι προχωρημένες αθηροσκληρωτικές βλάβες ονομάζονται ινώδεις πλάκες. Η εστεροποιημένη και η ελεύθερη χοληστερόλη είναι τα επικρατούντα λιπίδια. Μία ινώδης κάψα, που περιέχει λεία μυϊκά κύτταρα, μακροφάγα και T-λεμφοκύτταρα καλύπτει την πλάκα <sup>186</sup>. Οι ινώδεις πλάκες προβάλλουν προς τον αυλό και μπορεί να παρακωλύουν την ροή αίματος. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα που καλύπτουν τις αθηροσκληρωτικές βλάβες συχνά είναι δυσλειτουργικά, ασυνήθιστα διευρυσμένα ή δυσμορφικά και δεν καλύπτουν πλήρως την επιφάνεια του έσω χιτώνα. Το έμφραγμα του μυοκαρδίου που οφείλεται σε απόφραξη στεφανιαίου αγγείου, συνηθέστερα προκαλείται μετά από ρήξη του ινώδους καλύμματος της λεγόμενης “ασταθούς” πλάκας. Της ρήξης της ινώδους πλάκας έπεται η έκθεση του νεκρωτικού πυρήνα της στην κυκλοφορία με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της πήξης και την απόφραξη του αυλού του στεφανιαίου από νωπό θρόμβο.

Οι παράγοντες που οδηγούν στην αποσταθεροποίηση της πλάκας είναι η μείωση του αριθμού των λείων μυϊκών κυττάρων που την περιβάλλουν &/ή η καταστροφή των

εξωκυττάρων συνδέσεων. Η παρατεταμένη χρήση στατινών φαίνεται πως οδηγεί σε σταθεροποίηση της πλάκας. Οι ασταθείς πλάκες συνηθέστερα είναι διηθημένες από φλεγμονώδη κύτταρα και περιβάλλονται από λίγα λεία μυϊκά κύτταρα. Ξεκινώντας από την εργασία του Rudolf Virchow ο οποίος πρώτος χαρακτήρισε την αθηροσκλήρωση ως φλεγμονώδη νόσο, οι προερχόμενες από το εργαστήριο του Virmani δημοσιεύσεις απέδειξαν ότι η μείωση των οιστρογόνων μετά την εμμηνόπαυση σχετίζεται με μια φλεγμονώδη αντίδραση εντός της πλάκας στην αθηροσκληρωτική αρτηρία <sup>187</sup>. Από όλα τα παραπάνω επιβεβαιώνεται η αντιφλεγμονώδης δράση των ενδογενών οιστρογόνων στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αντι-αθηροσκληρωτική δράση των οιστρογόνων μπορεί να επιτυγχάνεται είτε άμεσα (π.χ. αναστέλλοντας την παραγωγή και δραστηριότητα των προφλεγμονωδών κυτοκινών, των αυξητικών παραγόντων και των αγγειοσυσπαστικών) είτε έμμεσα μέσω παρεμπόδισης πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων <sup>188</sup>. Έτερες αντι-αθηροσκληρωτικές δράσεις των οιστρογόνων αποτελούν: η μεταβολή του ηπατικού μεταβολισμού των λιπιδίων, η ευοδωτική δράση τους στην παραγωγή της καρδιοπροστατευτικής HDL-χοληστερόλης, η αυξημένη δραστηριότητα της συνθετάσης του NO, η αντιοξειδωτική δράση των οιστρογόνων .

Οι αντι-αθηροσκληρωτικές δράσεις των οιστρογόνων είναι παρούσες σε όλα τα στάδια της αθηροσκλήρωσης από τις δυνητικά αναστρέψιμες λιπώδεις γραμμώσεις μέχρι τις προχωρημένες αθηρωματικές πλάκες. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι λιπώδεις γραμμώσεις είναι παρούσες από την ενδομήτριο ζωή και επιδεινώνονται από την υπερχοληστερολαιμία της μητέρας. Γίνεται προφανείς η αναγκαιότητα πρόληψης της αγγειακής νόσου ενωρίς από την παιδική ηλικία δίνοντας έμφαση στην παθογενετική δυναμική της LDL

χοληστερόλης. Μια από τις κύριες δράσεις των οιστρογόνων είναι η αποτροπή συσσώρευσης της χοληστερόλης. Δεν έχει ξεκαθαρισθεί πως αποτρέπεται η συσσώρευση και εάν συμμετέχουν, και σε πιο βαθμό συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς <sup>189</sup>. Μολονότι στα ποντίκια έχει αποδειχθεί ότι η προστασία των οιστρογόνων στις προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες επιτυγχάνεται μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων τύπου α (ERα), ένα ποσοστό της προστατευτικής αυτής δράσης επέρχεται και μέσω άλλων μηχανισμών <sup>190</sup>. Οι Villablanca και συν. απέδειξαν ότι στα ποντίκια με λιπώδεις γραμμώσεις, η προστατευτική δράση των οιστρογόνων μπορεί να επέλθει ανεξάρτητα από τους οιστρογονικούς υποδοχείς τύπου α (ERα) <sup>191</sup>.

Τα παραπάνω ευρήματα προέρχονται από μελέτες σε πειραματόζωα και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εξηγήσουν την ανθρώπινη αγγειακή νόσο αλλά αντικατοπτρίζουν την πολυπλοκότητα των μηχανισμών μέσω των οποίων τα οιστρογόνα ασκούν την δράση τους. Επίσης φαίνεται ότι η πρώιμη και η όψιμη αθηρωμάτωση υπόκεινται σε διαφορετικούς κυτταρικούς μηχανισμούς προστασίας ανάλογα με τους εμπλεκόμενους κάθε φορά οιστρογονικούς υποδοχείς. Εάν μέσω των προαναφερθέντων δεδομένων γινόταν κατανοητή η ανθρώπινη αθηροσκλήρωση, αυτό θα επέφερε τεράστιες μεταβολές στην θεραπεία των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και επίσης θα εξηγούσε τις αστοχίες της ορμονικής θεραπείας σε ευρύτετες τυχαιοποιημένες μελέτες (RCTs) που διεξήχθησαν πριν δύο δεκαετίες. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε ένα τρίτο είδος οιστρογονικού υποδοχέα [G protein coupled oestrogen receptor (GPER) ] το οποίο περιπλέκει ακόμη περισσότερο την έρευνα. Φάρμακα όπως οι SERMs, τα οποία δρουν ως ανταγωνιστές



στους κλασσικούς οιστρογονικούς υποδοχείς ERα και ERβ, έχουν δράση αγωνιστή στους GPER υποδοχείς <sup>192</sup>.

Όπως προαναφέρθηκε, η αγγειακή υγεία είναι απαραίτητος παράγοντας για την ωθητική λειτουργία και για την απρόσκοπτη παραγωγή των οιστρογόνων. Επιπρόσθετη παραγωγή οιστρογόνων, εκτός της ωθητικής, έχει ως πηγή προέλευσης το αγγειακό τοίχωμα. Η Τεστοστερόνη μπορεί επίσης να μετατραπεί σε Οιστραδιόλη μέσω της αρωματάσης τόσο στον λιπώδη ιστό όσο και στο ίδιο το αγγειακό τοίχωμα <sup>193</sup>. Δεν έχει γίνει μέχρι σήμερα γνωστό, το ποσοστό συμμετοχής των τοπικώς παραγόμενων οιστρογόνων (από το αγγειακό τοίχωμα) στην γενικότερη ευεργετική δράση τους στο αγγειακό τοίχωμα <sup>194</sup>. Φαίνεται ότι το νοσούν αγγειακό τοίχωμα έχει επηρεασμένη τοπική παραγωγή οιστρογόνων και αυτό επιφέρει ταχύτερη επιδείνωση της ήδη εγκατεστημένης αρτηριοσκλήρυνσης.

### Οιστρογόνα και μεταβολισμός λιπιδίων

Τα ενδογενή οιστρογόνα αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές στην βιοσύνθεση και στην οξειδωση των λιπιδίων. Οι δράσεις αυτές επέρχονται είτε άμεσα επηρεάζοντας την ηπατική σύνθεση ή έμμεσα μειώνοντας το οξειδωτικό στρες και έτσι αυξάνοντας την βιοδιαθεσιμότητα του NO. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα επηρεασμού της ηπατικής παραγωγής αποτελεί η αυξημένη παραγωγή τριγλυκεριδίων μετά από χρήση οιστρογονικής / προγεστερονικής ορμονικής θεραπείας χορηγουμένης από το στόμα. Η

αυξημένη αυτή παραγωγή διορθώνεται όταν η οδός χορήγησης είναι η διαδερμική, κατά την οποία αποφεύγεται το φαινόμενο της πρώτης διόδου του ήπατος. Τα ενδογενή οιστρογόνα των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών σχετίζονται με υψηλά επίπεδα HDL και χαμηλά επίπεδα LDL. Κατά αντιστοιχία μετά από ωοθηκεκτομή επέρχεται επιδείνωση του λιπιδαιμικού προφίλ με μείωση της HDL και αύξηση της LDL. Τα οιστρογόνα είναι πολύ αποτελεσματικά στις χημικά τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες. Η φαινολική αρχιτεκτονική των οιστρογόνων έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και έτσι παρεμποδίζει την οξειδωση των LDL και VLDL <sup>195</sup>. Παρομοίως, η 17β-οιστραδιόλη είναι αποτελεσματική στην παρεμπόδιση παραγωγής της minimally modified LDL (mmLDL) και στην αγγειακή συσσώρευσή της. Η οξειδωση της LDL επηρεάζεται από τα εξωγενή οιστρογόνα με πανομοιότυπο τρόπο. Η LDL χοληστερόλη συνδέεται στον LDL-υποδοχέα της, ενώ επί απουσίας του τελευταίου επέρχεται υπερχοληστερολαιμία και εκσεσημασμένη αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα οιστρογόνα επιδρούν ταυτόχρονα στον LDL-υποδοχέα καθώς και στην δράση της LDL. Η επίδραση των οιστρογόνων στον LDL-υποδοχέα επηρεάζει και τον καταβολισμό των LDL & VLDL <sup>196</sup>.

Επιπλέον, η 17β-οιστραδιόλη μειώνει τόσο την παραγωγή όσο και το μέγεθος των σωματιδίων της LDL. Ενισχύει την έκφραση του LDL-υποδοχέα και διεγείρει την δραστικότητα της στερολ-27-υδροξυλάσης, ενός ενζύμου που μειώνει την παραγωγή της LDL. Συνολικά, η 17β-οιστραδιόλη επηρεάζει τόσο την σύνδεση όσο και τον υποδοχέα του LDL στο κύτταρο στόχο. Η δραστικότητα της στερολ-27-υδροξυλάσης αυξάνεται από την 17β-οιστραδιόλη και μπορεί να παρεμποδισθεί από τους SERMs. Η αναστολή της

δράσης της υδροξυλάσης είναι πιθανόν να επέρχεται μέσω μπλοκαρίσματος των ERα & ERβ ή μέσω ενεργοποίησης των GPER.

Κατά την διάρκεια της αθηροσκληρωτικής νόσου, τα οιστρογόνα συνεχίζουν να επηρεάζουν την δραστηριότητα και την δομή των λιποπρωτεϊνών. Τα μακροφάγα είναι εφοδιασμένα με τους ονομαζόμενους υποδοχείς αποκάθαρσης, οι οποίοι συνδέονται και εσωτερικεύουν τα μόρια της LDL, ιδιαίτερα τα μόρια της οξειδωμένης LDL. Η 17β-οιστραδιόλη επιδρά στους υποδοχείς αποκάθαρσης και αναστέλλουν την πρόσληψη της ακετυλιωμένης LDL από τα μακροφάγα <sup>197</sup>. Τα οιστρογόνα παρεμποδίζουν την δημιουργία των αρχικών αθηρωματικών βλαβών δηλαδή των λιπωδών γραμμώσεων μέσω πολλαπλών μηχανισμών. Η οξειδωμένη LDL προάγει την προσκόλληση των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων στα κύτταρα του αγγειακού ενδοθηλίου, και αυτό αποτελεί το πρώτο βήμα στην δημιουργία της λιπώδους γράμμωσης. Ακολουθεί διείσδυση των μονοκυττάρων στον έσω χιτώνα όπου μετατρέπονται σε μακροφάγα γεμάτα λίπος ονομαζόμενα και αφρώδη κύτταρα. Οι λιπώδεις γραμμώσεις αποτελούνται από συσσωρευμένα μακροφάγα και εστεροποιημένη χοληστερόλη στον έσω χιτώνα. Ακολουθεί ενεργοποίηση των μηχανισμών της φλεγμονής <sup>198</sup>. Όλες αυτές οι προαναφερθείσες διεργασίες αναστέλλονται από τα οιστρογόνα, τα οποία επίσης παρεμποδίζουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης όπως τα vascular cell adhesion molecule-1, intercellular cell adhesion molecule-1 και άλλα ανάλογα μόρια. Μέσω αυτών των μορίων, τα οιστρογόνα παρεμποδίζουν έμμεσα τον σχηματισμό των λιπωδών γραμμώσεων.

Μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι τα οιστρογόνα αυξάνουν τα ηπατικά επίπεδα mRNA της απολιποπρωτεΐνης A1 και μέσω αυτών διεγείρεται η παραγωγή της απολιποπρωτεΐνης

E<sup>199</sup>. Τα οιστρογόνα επιπλέον διεγείρουν την δράση του ABC-A1 (ATP-binding cassette transporter A1) μεταφορέα, ο οποίος φέρεται να μεταφέρει αντίστροφα την χοληστερόλη<sup>200</sup>. Η ηπατική σύνθεση της HDL αυξάνεται από τα οιστρογόνα, ενώ παράλληλα μειώνονται οι υποδοχείς αποκάθαρσης B1, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την αφαίρεση της HDL από την κυκλοφορία. Τα παραπάνω οδηγούν σε αύξηση του χρόνου παραμονής της HDL στην αγγειακή κυκλοφορία<sup>201</sup>. Απαιτείται επιπρόσθετη έρευνα προκειμένου να αποσαφηνισθεί ο ρόλος των διαφορετικών οιστρογονικών υποδοχέων στις παραπάνω δράσεις τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες.

#### Κλινικές μελέτες: περιορισμοί και πρόσφατα δεδομένα.

Πολλαπλές παράμετροι πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν κάθε φορά που εκτιμώνται οι δράσεις των οιστρογόνων στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Γενικά η οιστρογονική θεραπεία αποτελεί μία από τις λιγιστές μεθόδους μείωσης των κυκλοφορούντων επιπέδων λιποπρωτεΐνης (α). Οι ασθενείς που έχουν μεταλλάξεις στον υποδοχέα ή στις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων δεν ανταποκρίνονται ανάλογα μετά από λήψη ορμονικής θεραπείας. Χαρακτηριστικό παραδείγματα αποτελεί η μετάλλαξη του υποδοχέα της LDL, η οποία οδηγεί σε παθολογική αύξηση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης. Αντίθετα οι ασθενείς που φέρουν ετερόζυγες μεταλλάξεις στον ABC-A1 (ATP-binding cassette transporter A1) μεταφορέα, χαρακτηρίζονται από μειωμένη ικανότητα εκροής της χοληστερόλης και ασυνήθιστα χαμηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης. Η οιστρογονική επίδραση στον μεταβολισμό της χοληστερόλης επηρεάζεται και όταν

επισυμβαίνουν μεταλλάξεις στους υποδοχείς των οιστρογόνων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι ασθενείς με μετάλλαξη στον υποδοχέα ER $\alpha$ , οι οποίες δεν εμφανίζουν αύξηση των επιπέδων της HDL μετά από οιστρογονική θεραπεία<sup>202</sup>.

Εξ' όλων των προαναφερθέντων διαφαίνεται ότι, η αποτελεσματικότητα της χορηγούμενης ορμονικής θεραπείας εξαρτάται αφενός από γενετικούς παράγοντες που ευθύνονται για την βιοσύνθεση ή την διαχείριση των λιπιδίων και αφετέρου από ορμονικούς παράγοντες όπως οι ανταποκρίσεις των ορμονικών υποδοχέων. Γίνεται δηλαδή εμφανής η πολυπλοκότητα που χαρακτηρίζει τις ανταποκρίσεις των θεραπειών αυτών. Είναι πολύ δύσκολο να προβλεφθεί το θεραπευτικό αποτέλεσμα όταν απουσιάζει η αντίστοιχη γενετική πληροφορία.

Μια πρόσφατη δημοσίευση έρχεται να περιπλέξει ακόμα περισσότερο τα προηγούμενα δεδομένα. Σύμφωνα με αυτή, οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο συγκρινόμενοι με άτομα που δεν έχουν στεφανιαία νόσο, εμφανίζουν HDL-χοληστερόλη με μειωμένες καρδιοπροστατευτικές δράσεις<sup>203</sup>. Προκύπτει λοιπόν το ερώτημα κατά πόσο αποτελεί θεραπευτικό στόχο η αύξηση της HDL σε ασθενείς με διεγνωσμένη στεφανιαία νόσο.

Τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένων μελετών που αφορούσαν στην δράση της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα μετεμμηνόπαυσιακών γυναικών έχουν ευρύτατα δημοσιευθεί και εκτενέστατα αναλυθεί. Παρά τα αρχικώς παρατηρούμενα ευεργετικά αποτελέσματα στο λιπιδαιμικό προφίλ, οι περισσότερες έρευνες ήταν αρνητικές μιας και η ορμονική θεραπεία επέφερε αύξηση των καρδιαγγειακών

συμβαμάτων. Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι στις δύο μεγαλύτερες μελέτες, τις Women's Health Initiative (WHI) και Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS), συμμετείχαν ασθενείς με προχωρημένη ηλικία και πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο μέχρι και τεκμηριωμένη στεφανιαία νόσο. Οι συμμετέχουσες ήταν πολλαπλά έτη σε εμμηνόπαυση, αναφέρεται έως και 20 έτη, και όλες έλαβαν συνεξευγμένα οιστρογόνα, δηλαδή έλαβαν οιστρογονικά ανάλογα (estrone , equilin & equilenin) από ούρα εγκύων φοράδων (αλόγων) με άγνωστη την ακριβή δράση τους σε έκαστο οιστρογονικό υποδοχέα. Τα συνεξευγμένα οιστρογόνα συνχορηγούνταν με ένα συνθετικό προγεσταγόνο, την οξική μεδρόξυ-προγεστερόνη, με στόχο την προστασία του ενδομητρίου και η οποία αποτελεί φάρμακο χημειοθεραπείας.

Στις μέρες μας, οι έρευνες έχουν στραφεί προς την επίδραση της φυσικής 17β-οιστραδιόλης στην καρδιαγγειακή νόσο και μια εξ' αυτών που βρίσκεται σε εξέλιξη είναι η KEEPS (the Kronos early estrogen prevention study) <sup>204</sup> . Οι Herrington και συν.<sup>205</sup> μελέτησαν την δράση των συνεξευγμένων οιστρογόνων στην μελέτη ERA (Estrogen Replacement and Atherosclerosis), ενώ οι Hodis και συν.<sup>206</sup> μελέτησαν τα αποτελέσματα της 17β-οιστραδιόλης. Και οι δύο μελέτες διενεργήθηκαν για περισσότερο από 3 χρόνια σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αποδεδειγμένη στεφανιαία νόσο. Τα αποτελέσματα και των δύο μελετών ήταν ουδέτερα για καρδιαγγειακά συμβάματα, παρά την αναμενόμενη, και επιβεβαιωθείσα τελικά, βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ.

Οι ερευνητές στράφηκαν και προς άλλες παραμέτρους. Σε μια μελέτη, περιφερική της WHI, στην οποία χρησιμοποιήθηκαν συνεξευγμένα οιστρογόνα, ανευρέθη σημαντική μείωση των στεφανιαίων αποτιτανώσεων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έλαβαν

θεραπεία επί 7,4 έτη <sup>207</sup> . Όπως έχει προαναφερθεί οι αποτιτανώσεις των στεφανιαίων αγγείων είναι μια πολύπλοκη διαδικασία στην οποία εμπλέκονται η πρόσληψη λιπιδίων και ο μεταβολισμός από τα αγγειακά κύτταρα. Φαίνεται πως τα οιστρογόνα ανεξαρτήτου προελεύσεως (ανθρώπινα ή ζωικά) έχουν ανασταλτική επίδραση στην διαδικασία των αποτιτανώσεων των στεφανιαίων αγγείων. Σε μια πρόσφατα δημοσιευθείσα μελέτη των Schierbeck και συν. <sup>208</sup> μελετήθηκαν τα αποτελέσματα της ορμονικής θεραπείας με 17β-οιστραδιόλη σε πρόσφατα εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν γυναίκες με ηλικία περίπου 50 ετών, οι οποίες είχαν πρόσφατα εμμηνόπαυση και παρακολουθήθηκαν επί 10 συνεχή έτη. Όπως αναμενόταν παρατηρήθηκε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ παρόμοια με αυτή προηγούμενων μελετών. Η συγκεκριμένη ερευνητική ομάδα ανέφερε επιπλέον σημαντική μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων δίχως αύξηση σε οποιονδήποτε καρκίνο. Η επιβεβαίωση των ευρημάτων αυτής της μελέτης θα ανοίξει νέους ορίζοντες στην χορήγηση ορμονικής θεραπείας με φυσικές ορμόνες σε γυναίκες με πρόσφατη εμμηνόπαυση για την πρωτοπαθή πρόσληψη της καρδιαγγειακής νόσου. Η αποτυχία των WHI & HERS και τα ευρήματα της μελέτης αυτής θέτουν την «timing hypothesis» δηλαδή την σπουδαιότητα του χρόνου έναρξης της ορμονικής θεραπείας προκειμένου να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Παρόμοια αποτελέσματα στην προστασία έναντι της αθηροσκλήρυνσης παρουσιάζουν και οι SERMs μέσω βελτίωσης του λιπιδαιμικού προφίλ και μείωσης του καρδιαγγειακού κινδύνου <sup>209</sup>. Δεν είναι προς το παρόν γνωστό, εάν αυτό το αποτέλεσμα οφείλεται στην δράση-αγωνιστή της λασοφοξιφένης στους GPER. Είναι αναγκαία η

διενέργεια μελετών που θα επιβεβαιώσουν ή θα ανατρέψουν τις πολλαπλά υποσχόμενες ευεργετικές δράσεις των SERMs.

## Συμπερασματικά

Τα ενδογενή οιστρογόνα αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές για τον μεταβολισμό των λιπιδίων στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες και η άρτια ωθητική λειτουργία είναι προαπαιτούμενη για την υγεία του καρδιαγγειακού. Πρόσφατα αποτελέσματα μακροχρόνιας μελέτης κατέδειξαν ότι η ορμονική θεραπεία με φυσικό οιστρογόνο βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ και μειώνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο στις γυναίκες με πρόσφατη εμμηνόπαυση. Έως ότου τα προαναφερθέντα αποτελέσματα επιβεβαιωθούν, οι μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο πρέπει να λαμβάνουν στατίνες και θεραπεία για διαβήτη ή αρτηριακή υπέρταση όποτε είναι αναγκαία<sup>210</sup>. Επιπρόσθετα μη φαρμακευτικά μέτρα αποτελούν η ρύθμιση του σωματικού βάρους (η οποία επιφέρει και βελτίωση της ινσουλινοαντοχής) και η καθημερινή μέσης έντασης εκγύμναση (επιτακτική ειδικά στις διαβητικές ασθενείς). Η θεραπευτική εξατομίκευση μπορεί να βοηθήσει στην ανεύρεση των γυναικών εκείνων, που μέσω λήψης ορμονικής θεραπείας, θα μειώσουν περαιτέρω τον καρδιαγγειακό κίνδυνο.



## Βιοχημικοί δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν έχουν μόνο δομικό ρόλο στην δημιουργία του αγγειακού τοιχώματος, αλλά επιτελούν ένα μεγάλο αριθμό λειτουργιών. Έτσι, η διαταραχή στην λειτουργία τους θεωρείται ότι είναι ο ακρογωνιαίος λίθος στην ανάπτυξη της αθηρωματικής νόσου. Η ταυτοποίηση και μέτρηση βιοχημικών δεικτών που αντιπροσωπεύουν την ορθή δραστηριότητά του, μπορούν να διευκολύνουν την μελέτη της λειτουργίας του in-vivo, και να προσφέρουν έναν τρόπο εκτίμησης της πορείας της αθηρωσκλήρυνσης και του κινδύνου μελλοντικής εκδήλωσης καρδιαγγειακής νόσου ή οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

## Vascular Endothelial Cadherin (VE-Cadherin)

Η VE-Cadherin αποτελεί μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, ειδική για το ενδοθήλιο, η οποία μαζί με τις α- και β- κατενίνες αποτελούν τα κυριότερα μόρια σχηματισμού των συνδέσμων προσκολλησεως. Ο ρόλος των συνδέσμων προσκολλησεως είναι να σχηματίζουν και να διατηρούν, στεγανή και σταθερή, την σύνδεση μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων του αγγειακού αυλού, αλλά και να ρυθμίζουν την διακίνηση πρωτεϊνών, μακρομορίων και λευκοκυττάρων διαμέσου του αγγειακού τοιχώματος.<sup>211</sup> Υπάρχουν πολυάριθμοι παράγοντες οι οποίοι έχοντας σαν στόχο δράσης την VE-Cadherin επηρεάζουν την διαπερατότητα του ενδοθηλίου. <sup>212, 213, 214, 215, 216</sup>

Η VE-Cadherin διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην δημιουργία νεοαγγείωσης, η οποία επισυμβαίνει σε περιπτώσεις ενεργοποίησης της φλεγμονώδους αντίδρασης, ενώ έχει τεκμηριωθεί η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασής της και της σοβαρότητας της φλεγμονής. Τέτοιες περιπτώσεις αποτελούν κυρίως ο καρκίνος και οι συστηματικές φλεγμονώδεις νόσοι <sup>217 218</sup>, ενώ σημαντικά αυξημένη νεοαγγείωση έχει βρεθεί επιπλέον και στις φλεγμαινουσες αθηρωματικές πλάκες. Η φλεγμονή της αθηρωματικής πλάκας συνοδεύεται από μειωμένη σταθερότητά της (πλάκας) και, συνεπώς, υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης οξέων καρδιαγγειακών συμβάντων. Με βάση αυτή τη θεωρία, δυο ανεξάρτητες ομάδες ερευνητών διερεύνησαν και απέδειξαν την αυξημένη έκφραση της VE-Cadherin σε φλεγμαινουσες αθηρωματικές πλάκες, οι οποίες εμφάνισαν αυξημένη συχνότητα επιπλοκών. <sup>219, 220</sup>

Ποσότητες VE-Cadherin ανιχνεύονται (και μπορούν να μετρηθούν) στο πλάσμα, ως αποτέλεσμα της απαγκίστρωσής της από το αγγειακό τοίχωμα. Υψηλά επίπεδα αντικατοπτρίζουν το βαθμό της ενδοθηλιακής βλάβης και καταδεικνύουν αυξημένο ρυθμό αγγειακής καταστροφής. Παρά την απουσία μελετών που να τεκμαίρουν τη χρήση της σαν αντιπροσωπευτικό δείκτη της εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου, υπάρχουν δημοσιεύσεις που δεικνύουν συσχέτιση των επιπέδων της με την ύπαρξη καρδιακής νόσου και διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας.<sup>221, 222</sup> Όσον αφορά σε παρεμβατικές μελέτες, σε μια τυχαίοποιημένη μελέτη στην οποία χορηγήθηκε ορμονική θεραπεία υποκατάστασης με 17β-οισταρδιόλη ή ραλοξιφαίνη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της VE-Cadherin και στις δύο ομάδες.<sup>223</sup>

## Διαλυτή E-Σελεκτίνη / Soluble E-selectin (sE-Selectin)

Η E-Selectin είναι μέλος της οικογένειας των σελεκτινών και εκφράζεται κατόπιν ερεθισμάτων στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων.<sup>224,225</sup> Κατάλληλα ερεθίσματα θεωρούνται ο TNF-α και η ιντερλευκίνη-1, όπως έχουν δείξει πειράματα σε κύτταρα ομφαλίου λώρου.<sup>226</sup> Η διαλυτή μορφή της E-σελεκτίνης που ανευρίσκεται στην κυκλοφορία μπορεί να προέλθει είτε από τον ενζυματικό καθαρισμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, είτε λόγω απομάκρυνσης της από την επιφάνεια των κυττάρων λόγω ενδοθηλιακής βλάβης.<sup>227</sup> Αυτή η μορφή της σελεκτίνης μπορεί να ανιχνευθεί και να μετρηθεί με τεχνικές ELISA στο πλάσμα, ενώ η συγκέντρωσή της έχει φανεί ότι συσχετίζεται σημαντικά με τον βαθμό έκφρασής της στην επιφάνεια των κυττάρων. Συνεπώς, η sE-Selectin θεωρείται ότι αντικατοπτρίζει την λειτουργική κατάσταση του ενδοθηλίου και ότι μπορεί να προσφέρει ένα μέτρο εκτίμησης του κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου.

Φυσιολογικά, τα επίπεδα της sE-Selectin είναι χαμηλότερα σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας από ότι σε άνδρες αντίστοιχης ηλικίας, ενώ τα επίπεδά της αυξάνουν μετά την εμμηνόπαυση.<sup>228,229</sup> Μειονέκτημα της sE-Selectin αποτελεί η μεγάλη διακύμανση που παρατηρείται από άτομο σε άτομο, ακόμα και σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό, μειονέκτημα το οποίο απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή στην αξιολόγηση των μετρήσεών της. Σε ερευνητικό επίπεδο όμως, όταν η μελέτη αφορά σε μεγάλο δείγμα ή αν ο σχεδιασμός της συμπεριλαμβάνει μετρήσεις κατά ζεύγη (πριν και μετά από μια παρέμβαση), το μειονέκτημα αυτό εξαλείφεται.

## sE-Selectin και καρδιαγγειακή νόσος

Στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει μια πλειάδα δημοσιεύσεων στις οποίες αναφέρονται αυξημένα επίπεδα sE-Selectin σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη, και με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Όσο πιο εκτεταμένο το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου τόσο υψηλότερες οι συγκεντρώσεις της sE-Selectin.<sup>230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242</sup>  
<sup>243</sup> Αντίθετα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στην μελέτη PREDICT, σύμφωνα με την οποία, τα επίπεδα της sE-Selectin σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη, δεν συσχετίστηκαν με κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου.<sup>244</sup>

Σε ασθενείς με περιφερική αποφρακτική αρτηριοπάθεια, δεν έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα sE-Selectin σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, ούτε σχετίζονται τα επίπεδά της με την έκταση-βαρύτητα της νόσου. Αντίθετα έχει διατυπωθεί ότι τα επίπεδα των ασθενών αυξάνουν μετά από σωματική κόπωση.<sup>245,246,247,248,249</sup> Σε διαβητικούς ασθενείς, επίσης παρατηρούνται αυξημένα επίπεδά της, ενώ σε περιπτώσεις αποφρακτικής εγκεφαλικής αγγειοπάθειας, ανευρίσκονται αυξημένα επίπεδα σε περιπτώσεις στενώσεως της καρωτίδας.<sup>250,251</sup> Ειδικότερα έχει διαπιστωθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων της sE-Selectin με το πάχος έσω-μέσου χιτώνα της κοινής καρωτίδας (Carotid Intima-Media Thickness).

## sE-Selectin & παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

In-vitro πειράματα, σε κύτταρα ομφαλίου λώρου μετά την έκθεσή τους σε διαλυτά συστατικά από τον καπνό τσιγάρου κατέδειξαν αύξηση της έκφρασης της sE-Selectin στην μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων.<sup>252</sup> Γενικά έχει αναγνωριστεί ότι οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, και ειδικότερα όταν είναι οξειδωμένες. Με βάση αυτή τη θεωρία πραγματοποιήθηκαν έρευνες όπου ενδοθηλιακά κύτταρα επώαστηκαν με LDL και μετρήθηκαν τα επίπεδα της sE-Selectin. Προέκυψαν αλληλοσυγκρουόμενα δεδομένα άλλοτε με αύξηση των επιπέδων και άλλοτε δίχως μεταβολή τους.<sup>253,254</sup>

Δεδομένα in-vivo μελετών, έχουν περιγράψει αυξημένα επίπεδα sE-Selectin σε παχύσαρκους ασθενείς, με τα επίπεδα να σχετίζονται με το BMI και το ποσοστό λιπώδους ιστού<sup>255,256,257,258</sup>, ενώ σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι διαδραματίζει και η ποιότητα της διατροφής, με χαμηλότερα επίπεδα σε ασθενείς με ορθές διατροφικές συνήθειες.<sup>259</sup> Υψηλά επίπεδα έχουν επίσης αναφερθεί σε υπέρτασικούς ασθενείς.<sup>260 261 262 263 264 265 266</sup>

Σε μελέτες διαβητικών ασθενών αναφέρονται αυξημένα επίπεδα σχετιζόμενα με τον βαθμό ανοχής στη γλυκόζη, ενώ η χορήγηση αγωγής επιδρά θετικά σε αυτά, μειώνοντας τα.<sup>267 268 269 270 271 272 273</sup> Η sE-selectin επίσης χρησιμοποιήθηκε σαν δείκτης πρόβλεψης του διαβήτη στην Nurses' Health Study σε πληθυσμό μεγαλύτερο από 127.000 γυναίκες.<sup>274</sup> Σε ορισμένες έρευνες ανευρέθησαν αυξημένα επίπεδα της sE-selectin σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμίας συγκρινόμενοι με υγιείς μάρτυρες, και επιπλέον τα επίπεδα της συσχετίστηκαν γραμμικά με χαμηλά επίπεδα HDL.<sup>275 276 277 278 279</sup> Η υψηλή συγκέντρωση τριγλυκεριδίων μπορεί επίσης να αυξήσει τα επίπεδα της σελεκτίνης.

## Η χρήση της sE-Selectin σε παρεμβατικές μελέτες

Παρεμβατικές μελέτες με χρήση φιμπρατών ή ω-3 λιπαρών οξέων κατέδειξαν μείωση των επιπέδων της sE-selectin η οποία ακολούθησε την βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ με αύξηση της HDL. Σε νέους ασθενείς, με οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, η αλλαγή του τρόπου διατροφής, η διακοπή του καπνίσματος και η έναρξη συστηματικής σωματικής δραστηριότητας οδήγησε σε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ και μείωση των επιπέδων της sE-selectin <sup>280</sup>. Η θεραπεία με στατίνες σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία οδήγησε σε αλληλοσυγκρουόμενα συμπεράσματα <sup>281 282 283 284 285</sup>, αλλά οι έρευνες αυτές είχαν σημαντικές διαφορές όχι μόνο στο χρησιμοποιούμενο σκεύασμα, αλλά και στον σχεδιασμό των δειγματοληψιών. Σε πρόσφατες έρευνες βρέθηκε ότι η συμπληρωματική αγωγή με φυλλικό οξύ μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της sE-selectin. <sup>286</sup>

Συμπερασματικά, η sE-selectin είναι μία πρωτεΐνη ειδική για το ενδοθήλιο, τα επίπεδα της οποίας στο πλάσμα μπορεί να αυξηθούν στην στεφανιαία νόσο και στον σακχαρώδη διαβήτη, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην πρόβλεψη του κινδύνου για ανάπτυξη διαβήτη. Έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε παρεμβατικές μελέτες σαν δείκτης αποτελεσματικότητας κάποιας θεραπείας για την μείωση του κινδύνου εμφάνισης μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

## Παράγοντας von Willebrand / von Willebrand factor (vWf)

Ο παράγοντας von Willebrand (vWf) συντίθεται στο ενδοθήλιο και στα μεγακαρυοκύτταρα και ανευρίσκεται σ' αυτά, όπως και στα αιμοπετάλια. Ο παράγοντας von Willebrand δρα ως συγκολλητική πρωτεΐνη και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση αιμοπεταλίων στον υπενδοθηλιακό ιστό σε θέσεις που υπάρχει αγγειακή βλάβη <sup>287</sup>. Κατά τον τραυματισμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, ο vWf εκκρίνεται σαν απάντηση από τις μεμβρανικές δομές των ενδοθηλιακών κυττάρων που ονομάζονται σωμάτια Weibel-Palade. Η μέτρηση των επιπέδων του στο πλάσμα με τεχνικές ELISA θεωρείται το gold standard στην εκτίμηση της ενδοθηλιακής βλάβης και αυξάνεται χαρακτηριστικά στις νόσους του καρδιαγγειακού συστήματος. <sup>288</sup>

### vWf και καρδιαγγειακή νόσος

Σε φαινομενικά υγιή άτομα, τα επίπεδα του vWf μπορούν να προβλέψουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ισχαιμικής καρδιακής νόσου, όπως έχουν δείξει αρκετές μεγάλες έρευνες <sup>289 290 291</sup>. Σε ασθενείς με στηθάγχη ή οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, τα επίπεδα του παράγοντα μπορούν να προβλέψουν όχι μόνο την επανεμφάνιση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, αλλά και την πιθανότητα θανάτου από αυτό <sup>292 293</sup>.

Όσον αφορά στην περιφερική αποφρακτική αγγειοπάθεια, ο vWf βρέθηκε στη μελέτη ARIC ότι μπορεί να προβλέψει την πιθανότητα εμφάνισης αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου σε προηγουμένως φαινομενικά υγιή άτομα, αλλά και σε άτομα με κολπική

μαρμαρυγή<sup>294 295</sup>. Σε ασθενείς με αποφρακτική αρτηριοπάθεια των κάτω άκρων, η συγκέντρωση του vWf συσχετίστηκε με τον βαθμό της σοβαρότητας της νόσου.<sup>296</sup>

### vWf και παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

Οι κυριότεροι μέχρι σήμερα παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου, είναι το κάπνισμα, η υπέρταση και η υπερχοληστερολαιμία και έχουν όλοι σχετιστεί με αυξημένα επίπεδα του vWf.<sup>297 298 299 300</sup>. Ο vWf είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εκδήλωση οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία αλλά και εκδήλωσης βλαβών σε όργανα-στόχους της υπέρτασης σύμφωνα με την μελέτη ASCOT.<sup>301</sup>

### Η χρήση του vWF σε παρεμβατικές μελέτες

Σε δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς, η θεραπεία με στατίνες ή με φιμπράτες δεν επηρέασαν τα επίπεδα του vWf.<sup>302</sup> Αντίθετα σε διαβητικούς ασθενείς, η θεραπεία με ροσιγλιταζόνη, προκάλεσε μείωση των επιπέδων του vWf.<sup>303 304</sup> Παρόμοια μείωση προκάλεσε τόσο η χορήγηση βιταμίνης C, όσο και άλλες πολυπαραγοντικές παρεμβάσεις σε παράγοντες κινδύνου, στην ίδια ομάδα ασθενών.<sup>305 306</sup> Η διόρθωση της υπερτάσεως, επίσης μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των επιπέδων του vWf. Αντίθετα, η θεραπεία της ομοκυστεϊναιμίας με την συνχορήγηση φυλλικού οξέος και βιταμίνης Β6 δεν οδήγησε σε μείωση του vWf.<sup>307</sup>



Στην μελέτη CADET, η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή με κλοπιδογρέλη ή ασπιρίνη, οδήγησε σε σημαντική μείωση του vWf, ενώ στη μελέτη STEMI η οποία διερεύνησε την επίδραση της θρομβόλυσης στην οξεία φάση του εμφράγματος του μυοκαρδίου, φάνηκε ότι τα επίπεδά του συσχετίζονται με καλύτερη ροή αίματος στα στεφανιαία αγγεία.<sup>308 309</sup>

Γενικά, τα τρέχοντα δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα του vWf στο πλάσμα μπορούν να προβλέψουν τον κίνδυνο θανάτου από νοσήματα του καρδιαγγειακού, τόσο σε φαινομενικά υγιή άτομα, όσο και σε ασθενείς με τεκμηριωμένη νόσο του καρδιαγγειακού, και λόγω της αυξημένης του ειδικότητας για τα νοσήματα του καρδιαγγειακού, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν αντιπροσωπευτικός δείκτης σε ανάλογες παρεμβατικές μελέτες.

## Διαλυτή Θρομβομοντουλίνη / Soluble Thrombomodulin – Stm

Η θρομβομοντουλίνη είναι ένα μόριο που εκφράζεται ειδικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο ως συμπαράγοντας της πρωτεΐνης C έχοντας αντιπηκτικές ιδιότητες. Απελευθερώνεται από τραυματισμένα ενδοθηλιακά κύτταρα, και συνεπώς θεωρείται ότι είναι ειδικός δείκτης της ενδοθηλιακής βλάβης<sup>310,311</sup>. Οι συγκεντρώσεις της στο πλάσμα μπορούν με ακρίβεια να προσδιοριστούν με την μέθοδο ELISA. Το πλεονέκτημά της, έναντι άλλων δεικτών, της ενδοθηλιακής βλάβης είναι ότι δεν διαφοροποιείται σημαντικά με την ηλικία, αν και θεωρείται ότι η ποσότητα των βιοδιαθέσιμων οιστρογόνων μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδά της, καθώς έχουν βρεθεί χαμηλότερα επίπεδα σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες, έναντι των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας.<sup>312</sup>

## Soluble Thrombomodulin και καρδιαγγειακή νόσος

Στην ισχαιμική νόσο της καρδιάς, αυξημένα επίπεδα της sTM, έχουν συσχετιστεί με επανειλημμένα οξέα συμβάματα<sup>313</sup>. Από την άλλη πλευρά, τα **χαμηλότερα** επίπεδα έχουν συσχετιστεί με **αυξημένο** κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου στα **υγιή** άτομα που συμμετείχαν στην μελέτη ARIC.<sup>314 315</sup> Σε αυτό το σημείο πρέπει να τονιστεί ότι τα επίπεδα της sTM μπορεί να αντικατοπτρίζουν είτε την *ιδιοσυγκρασιακά αυξημένη* έκφραση στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων ορισμένων ατόμων, γεγονός που μπορεί να δίνει σε αυτά ένα “αντιθρομβωτικό πλεονέκτημα” και μειωμένο καρδιαγγειακό

κίνδυνο, είτε να αντικατοπτρίζουν *μεγάλο βαθμό ενδοθηλιακής βλάβης* σε ασθενείς με ήδη τεκμηριωμένη νόσο του καρδιαγγειακού. Χρειάζεται επομένως προσεκτική αξιολόγηση των επιπέδων της sTM, τόσο σε ατομικό επίπεδο (για μεμονωμένους ασθενείς) όσο και σε ερευνητικό επίπεδο σε μία ομάδα ασθενών. Τα αποτελέσματα της μελέτης GENIC υποστηρίζουν αυτή τη θεωρία, καθώς κατέδειξε τόσο *συσχέτιση αυξημένης θνησιμότητας μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο με τα αυξημένα επίπεδα της sTM*, όσο και *υψηλότερο ρίσκο εμφάνισης για πρώτη φορά αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου σε φαινομενικά υγιή άτομα με χαμηλότερα επίπεδα sTM*.<sup>316</sup> Τέλος, στην μελέτη ARIC, βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκτασης της καρωτιδικής αρτηριοσκλήρυνσης και των επιπέδων της sTM.

Παρόμοια αποτελέσματα έχουν ανευρεθεί και σε ασθενείς με περιφερική αποφρακτική αρτηριοπάθεια, ενώ αντίστοιχα αποτελέσματα δεν έχουν φανεί σε ασυμπτωματικά άτομα. Στην μελέτη ARIC, δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων της sTM, και του κνημοβραχιόνιου δείκτη αρτηριακής πίεσεως, ενώ παρόμοια αποτελέσματα κατέδειξαν και άλλες δύο έρευνες.<sup>317,318</sup> Σε συμπτωματικούς ασθενείς, έχει καταδειχθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση τόσο με την διαδερμικώς μετρούμενη μερική πίεση του οξυγόνου (TcPO<sub>2</sub>), όσο και με τον βαθμό έκτασης της νόσου <sup>319 320 321</sup>.

## Soluble Thrombomodulin & παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

Από τους ευρύτερα γνωστούς παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου, μόνο το κάπνισμα έχει συσχετιστεί με 15% χαμηλότερα επίπεδα sTM, ενώ δεν έχει βρεθεί καμία συσχέτιση με το BMI, την αρτηριακή πίεση και το επίπεδο γλυκόζης αίματος στους διαβητικούς. Σε μελέτες χορήγησης στατίνης σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς διαπιστώθηκε μείωση της sTM ενώ αντίστοιχες μελέτες σε ασθενείς με αυξημένα τριγλυκερίδια και χορήγηση φαινοφιμπράτης δεν διαπιστώθηκε αντίστοιχη μείωση. Μείωση παρατηρήθηκε επίσης και μετά την συνχορήγηση βιταμίνης B6 και φυλλικού οξέος σε ασθενείς με αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης.

*Συνοπτικά, στον φαινομενικά υγιή πληθυσμό τα υψηλά επίπεδα της sTM δρουν προστατευτικά έναντι των οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων, ενώ σε ασθενείς με κλινικά εκδηλωμένη νόσο, επειδή αντικατοπτρίζουν τον βαθμό της ενδοθηλιακής βλάβης και την έκταση της νόσου, συσχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση.*

## Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας μετά από αντιδραστική υπεραιμία

### Brachial artery flow mediated dilatation - FMD

Τα ερευνητικά δεδομένα έχουν πλέον αποσαφηνίσει ότι η αθηρωματική νόσος είναι μία χρόνια εξελικτική διαδικασία η οποία άρχεται πολύ νωρίτερα από τις πρώτες κλινικές εκδηλώσεις της, δίνοντας πολλές ευκαιρίες έγκαιρης προληπτικής παρέμβασης. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου αποτελεί πρώιμο εύρημα της αθηρωματικής νόσου. Ανάμεσα στις μεθόδους οι οποίες έχουν την ευαισθησία να διαγνώσουν την αρχική λειτουργική διαταραχή του ενδοθηλίου είναι η FMD. Η υψηλή ευαισθησία (της FMD) σε συνδυασμό με την αντικειμενικότητά της (εάν εκτελεστεί σωστά), δίνει την δυνατότητα να χρησιμοποιείται ως μέτρο έκβασης για την αξιολόγηση θεραπευτικών μεθόδων κατά των καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Σύμφωνα με πειράματα που διεξήχθησαν κατά την δεκαετία του 1980, διεφάνη ότι η πρόκληση αγγειοδιαστολής στη αορτή πειραματόζων μετά από χορήγηση ακετυλοχολίνης εξαρτάτο από την ύπαρξη άθικτου ενδοθηλιακού ιστού. Αυτός ο ενδοθηλιοεξαρτώμενος μηχανισμός αγγειοδιαστολής απεδείχθη ότι επιτυγχάνεται από το μονοξείδιο του αζώτου (NO).<sup>322</sup>

Το NO ασκεί πολυάριθμες δράσεις για την διατήρηση της ομοιοστασίας του αρτηριακού τοιχώματος, οι οποίες εξαφανίζονται σε περιπτώσεις ενδοθηλιακής βλάβης. Στην κλινική πράξη, η μελέτη της επίδρασης του NO στο αγγειακό τοίχωμα έχει σημαντική αξία καθώς πιστεύεται ότι αντιπροσωπεύει την γενικότερη μορφολογική και λειτουργική

ακεραιότητα του ενδοθηλίου. Το 1986, σε πειράματα σε ανθρώπους κατά την διενέργεια καρδιακού καθετηριασμού βρέθηκε ότι η έγχυση ακετυλοχολίνης προκαλεί παράδοση αγγειοσύσπαση, σε αντίθεση με υγιείς ανθρώπους στους οποίους προκαλείται δοσοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή.<sup>323</sup> Παρόμοια αποτελέσματα έχουν φανεί και με εναλλακτικούς φαρμακολογικούς παράγοντες όπως η αδενοσίνη και η ακετυλοχολίνη.

Δεδομένων των προφανών κινδύνων που μπορεί να επιφέρει αυτή η μέθοδος εκτίμησης της κατάστασης του ενδοθηλίου, εισήχθη στις αρχές της δεκαετίας του 1990 η μη επεμβατική μέθοδος εκτίμησης της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιονίου αρτηρίας μετά από αντιδραστική υπεραϊμία (Brachial Artery Flow Mediated Dilatation - FMD)<sup>324</sup>. Βασική αρχή της μεθόδου είναι η πρόκληση αύξησης της ροής στη βραχιόνιο αρτηρία μέσω του διαδοχικού φουσκώματος και ξεφουσκώματος μίας περιχειρίδας τοποθετημένης στο αντιβράχιο του εξεταζόμενου, και μέτρηση των μεταβολών στη διάμετρο της βραχιονίου αρτηρίας, ως απάντηση σε αυτό το ερέθισμα, με την χρήση υπερηχογραφίας υψηλής ανάλυσης. Η διαστολή αυτή αναστέλλεται πλήρως από την παρουσία αναστολέων της ενδοθηλιακής συνθέτασης του μονοξειδίου του αζώτου, οπότε θεωρείται ότι εξαρτάται αποκλειστικά από την ποσότητα του βιοδιαθέσιμου μονοξειδίου του αζώτου τη στιγμή της εξέτασης.<sup>325</sup> Έχουν δημοσιευτεί πολυάριθμες μελέτες που καταδεικνύουν μειωμένη FMD σε ανθρώπους με παρόντες παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, αλλά και άμεση διόρθωσή της όταν απομακρυνθούν αυτοί οι παράγοντες (π.χ. διακοπή καπνίσματος, ρύθμιση λιπιδαιμικού προφίλ.). Πρέπει να τονίσουμε στο σημείο αυτό ότι επειδή η καρδιαγγειακή είναι νόσος κάθε αγγείου του σώματος και όχι μόνο των στεφανιαίων ή των εγκεφαλικών αγγείων, η

λειτουργική κατάσταση της βραχιονίου αρτηρίας αντικατοπτρίζει σε ένα βαθμό και την λειτουργία των υπόλοιπων αγγείων στο σώμα, παρόλο που παίζουν σημαντικό ρόλο και τοπικοί αιμοδυναμικοί παράγοντες. Η κλινική σημασία της εξέτασης αυτής είναι ότι δίνει την δυνατότητα ταυτοποίησης ασθενών που έχουν κίνδυνο να αναπτύξουν καρδιαγγειακή νόσο, από την φάση της αρχικής ενδοθηλιακής βλάβης, όταν η εκτέλεση επεμβατικής μεθόδου εκτίμησης δεν έχει ένδειξη.<sup>326</sup>

## Μεθοδολογία

Παρόλο που η ιδέα της εκτέλεσης των μετρήσεων φαίνεται απλή, χρειάζεται ένα σημαντικό διάστημα για την εκπαίδευση του εκάστοτε εξεταστή, προκειμένου τόσο η λήψη των εικόνων, όσο και η εκτέλεση των μετρήσεων να γίνεται με ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Στα χρόνια που μεσολαβήσανε από την πρώτη παρουσίαση της μεθόδου, η τεχνολογική εξέλιξη των μηχανημάτων υπερηχογραφικής απεικόνισης αλλά και η αποσαφήνιση της μεθοδολογίας βελτίωσε την διακύμανση των αποτελεσμάτων της μεθόδου.

## Προετοιμασία ασθενών

Καθώς έχει φανεί πως ένας μεγάλος αριθμός εξωγενών παραγόντων μπορεί να επηρεάσουν την FMD, συμπεριλαμβανομένου της θερμοκρασίας, του stress, της λήψης φαγητού και φαρμάκων, συστήνεται οι μετρήσεις να γίνονται κατόπιν νηστείας σε ήσυχο

δωμάτιο με ελεγχόμενη θερμοκρασία<sup>327, 328, 329</sup> Το κάπνισμα πρέπει να αποφεύγεται για 4 με 6 ώρες πριν την εξέταση και ειδικά για γυναίκες πρέπει να αναφέρεται και η φάση του καταμήνιου κύκλου την οποία βρίσκονται.<sup>330</sup> Πρέπει να σημειωθεί ότι η συνολική επίδραση των ανωτέρω παραγόντων είναι μεν υπαρκτή, αλλά όχι κλινικά σημαντική για την αξιολόγηση του ασθενούς, και ακόμα και αν δεν είναι δυνατόν να δημιουργηθούν οι ιδανικές συνθήκες εξέτασης, το αποτέλεσμα μπορεί ακόμη να αξιολογηθεί.<sup>331</sup>

### Επιλογή σημείου για την εκτέλεση των μετρήσεων

Πριν την έναρξη της εξέτασης, ο ασθενής θα πρέπει να παραμείνει ήρεμος για τουλάχιστον 10 λεπτά προκειμένου να εξασφαλισθούν όσο το δυνατόν καλύτερες προϋποθέσεις για την εξέταση. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων μετράτε η βραχιόνιος αρτηρία, ενώ σε μικρά παιδιά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η μηριαία.<sup>332</sup> Αρτηρίες με διάμετρο μικρότερη των 2.5 χιλιοστών είναι δυσκολότερο να μετρηθούν, ενώ οι οποιοσδήποτε μεταβολές ως ποσοστό επί της αρχικής διαμέτρου μπορεί να υπερεκτιμηθούν. Λαμβάνονται διαμήκεις τομές της αρτηρίας με τη χρήση probe υψηλής ανάλυσης (7-12 MHz) ενώ ο υπό εξέτασιν ασθενής βρίσκεται ξαπλωμένος ανάσκελα με το χέρι να βρίσκεται υποστηριζόμενο σε θέση τέτοια ώστε να νιώθει άνετα ο ασθενής. Θα πρέπει να απεικονίζεται σαφώς τόσο το εγγύς όσο και το άπω τοίχωμα της αρτηρίας. Οι μετρήσεις λαμβάνονται στην τελοδιαστολική φάση, η οποία αναγνωρίζεται από την έναρξη του επάρματος R στο ηλεκτροκαρδιογράφημα και θεωρείται η ιδανικότερη για την εκτέλεσή τους. Τέλος, θα πρέπει να αναγνωριστούν τα παρακείμενα ανατομικά οδηγιά



σημεία ή και να χρησιμοποιηθεί εξωτερικός μηχανισμός σταθεροποίησης του probe, προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι θα μετρηθεί η διάμετρος του αγγείου στο ίδιο σημείο.

### Τοποθέτηση της περιχειρίδας.

Στην αρχική περιγραφή της μεθόδου, είχε προταθεί η περιχειρίδα να τοποθετείται στο αντιβράχιο και η απεικόνιση της βραχιονίου αρτηρίας να γίνεται άνωθεν της προωλενίου αύλακας. Το ίδιο σημείο προτιμάται και στην σύγχρονη εκδοχή της μεθόδου, με την περιχειρίδα να τοποθετείται 1 με 2 εκατοστά κάτωθεν του αγκώνος. Τοποθέτηση της περιχειρίδος περιφερικότερα, κοντά στον καρπό έχει σαν αποτέλεσμα την δημιουργία μικρότερης υπεραϊμίας και κατά συνέπεια υποεκτίμησης της FMD, ενώ εγγύτερη τοποθέτηση μπορεί επίσης να επηρεάσει τα αποτελέσματα των μετρήσεων.<sup>333</sup>

### Χρόνος παραμονής της περιχειρίδας

Η αρχική επιλογή των 5 λεπτών ως χρόνος παραμονής της φουσκωμένης περιχειρίδας παραμένει έγκυρος μέχρι σήμερα. Έχει αποδειχθεί ότι από την αρχή της παρεμπόδισης της κυκλοφορίας η FMD που θα προκύψει αυξάνεται γραμμικά μέχρι και τον χρόνο των 4,5 λεπτών περίπου. Από αυτό το σημείο και έπειτα ακόμα και με αναμονή για 10 λεπτά, η FMD δεν αυξάνει περαιτέρω. Πρέπει να σημειωθεί ότι είναι αναγκαίο το φούσκωμα να γίνεται με πίεση κατά 50mmHg μεγαλύτερη από την συστολική πίεση προκειμένου να δημιουργηθεί επαρκής ισχαιμία που με τη σειρά της θα προκαλέσει αντιδραστική αγγειοδιαστολή. Κατά τη φάση του ξεφουσκώματος η αντιδραστική

υπεραιμία θα προκαλέσει αγγειοδιαστολή εάν η ενδοθηλιακή λειτουργία είναι φυσιολογική.<sup>334</sup>

### Ανάλυση των αποτελεσμάτων της FMD

Η επικρατούσα βιβλιογραφική άποψη αναφέρει ότι, η μέγιστη αύξηση της διαμέτρου επισυμβαίνει 46 με 60 δευτερόλεπτα μετά την απελευθέρωση της περιχειρίδας. Πλέον είναι διαθέσιμα αυτοματοποιημένα λογισμικά μετρήσεων που επιτυγχάνουν βελτιωμένη επαναληψιμότητα των μετρήσεων μέσω της καταγραφής ολόκληρου του προφίλ μεταβολής της διαμέτρου του αγγειακού αυλού. Επιπλέον δίνεται δυνατότητα μέτρησης της αρχικής φάσης αγγειοσύσπασης που επισυμβαίνει στην φάση του φουσκώματος της περιχειρίδας, η οποία δίνει συμπληρωματικές πληροφορίες για την ενδοθηλιακή λειτουργία.<sup>335, 336</sup>

Τα αποτελέσματα του υπολογισμού της FMD αναφέρονται σαν το μέγιστο επί τοις εκατό (%) ποσοστό μεταβολής από την βασική διάμετρο του αγγείου. Έχουν χρησιμοποιηθεί σπανιότερα και η FMD στο 60 δευτερόλεπτο από την απελευθέρωση της περιχειρίδος, το εμβαδό της περιοχής κάτω από την καμπύλη (area under the curve – AUC) που περιγράφει την διάμετρο συναρτήσεως του χρόνου, αλλά και το χρονικό διάστημα επίτευξης της μέγιστης διαμέτρου, αλλά δεν υπάρχει επίσημη οδηγία για την καταγραφή και αξιολόγηση αυτών των παραμέτρων. Όπως προαναφέρθηκε είναι πολύ σημαντική η επίδραση του αρχικού μεγέθους του αγγείου στην τελική μέτρηση της FMD, τόσο μέσω της εφαπτόμενης τάσης στα τοιχώματα του αγγείου όσο και επειδή λαμβάνεται υπόψιν στον αριθμητικό προσδιορισμό της FMD.

## FMD και παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου

Έχουν δημοσιευτεί πολυάριθμες μελέτες που υπογραμμίζουν την σχέση της FMD με κλασσικούς παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου. Η ηλικία, το αυξημένο οξειδωτικό stress, το κάπνισμα και η διαταραχή του λιπιδιακού προφίλ αποτελούν παραδείγματα ανεξάρτητων παραγόντων που μπορεί να την επηρεάσουν. Ειδικότερα για το λιπιδαιμικό προφίλ βρέθηκε ότι αλλαγές στην FMD μπορεί να προκύψουν από την παιδική ηλικία σε περιπτώσεις ατόμων με οικογενή υπεχοληστερολαιμία.<sup>337</sup> Στις μη γενετικές διαταραχές του λιπιδαιμικού προφίλ, η αύξηση των επιπέδων χοληστερόλης ασκεί μικρή επίδραση στην FMD. Όμως σημαντική επίδραση έχει φανεί ότι ασκεί η οξειδωμένη LDL, αλλά και η ποσότητα των μικρών, πυκνών θραυσμάτων LDL ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL.<sup>338,339,340</sup> Όσον αφορά στην HDL φαίνεται ότι τα αυξημένα επίπεδα συσχετίζονται με καλύτερη FMD ενώ έχει δοκιμαστεί και η μετάγγιση ανασυνδυασμένης HDL με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.<sup>341</sup> Τέλος, η επίδραση των τριγλυκεριδίων δεν έχει ακόμα αποσαφηνισθεί και τα αποτελέσματα παραμένουν αλληλοσυγκρουόμενα.<sup>342,343</sup>

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί έναν επιπλέον παράγοντα που συσχετίζεται με παθολογική λειτουργικότητα του ενδοθηλίου. Και σε αυτήν τη περίπτωση βασικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει η αυξημένη συγκέντρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, και η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO. Σε νέους διαβητικούς ασθενείς φαίνεται πως το χρονικό διάστημα από την διάγνωση καθώς και η συγκέντρωση της LDL επιδρούν σαν ανεξάρτητοι παράγοντες στην FMD. Υπάρχει διατυπωμένη επιστημονική ομοφωνία ότι, η

σοβαρότητα-βαρύτητα του διαβήτη και ο βαθμός ελέγχου του σακχάρου σχετίζονται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία όπως αυτή προκύπτει από την μελέτη της FMD.<sup>344,345,346</sup>

Ένας άλλος παράγων κινδύνου που σχετίζεται σημαντικά με την FMD είναι η υπέρταση. Δεν έχει γίνει μέχρι σήμερα γνωστός ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός, αλλά υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της βαρύτητας της και του βαθμού επηρεασμού τη ενδοθηλιακής λειτουργίας.<sup>347</sup> Από τους λοιπούς παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου που έχουν επίσης σημαντική συσχέτιση με την FMD είναι το ενεργό και το παθητικό κάπνισμα, και η παχυσαρκία. Κοινός παρονομαστής σε όλους τους προαναφερθέντες παράγοντες (οι οποίοι επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία και κατά συνέπεια την FMD) είναι οι συνθήκες οξειδωτικού stress και η φλεγμονή στο ενδοθήλιο, η αύξηση των επιπέδων της ασύμμετρης διμεθυλ-αργινίνης (ADMA).

### FMD και εκδηλώσεις της καρδιαγγειακής νόσου

Η συσχέτιση μεταξύ της FMD και του κινδύνου εκδήλωσης καρδιαγγειακής νόσου έχει διερευνηθεί σε πολλές μελέτες. Η πλειονότητα αυτών έχουν αναδείξει σημαντική εξάρτηση, με μειωμένες τιμές της FMD να συσχετίζονται σημαντικά με αύξηση του κινδύνου για την εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων της νόσου.<sup>348,349,350</sup> Μάλιστα σε μεταανάλυση 14 ερευνών από αυτές κατεδείχθη ότι αύξηση κατά 1% της FMD μειώνει τον κίνδυνο κλινικού συμβάματος κατά 13%.<sup>351</sup> Η δημοσίευση αυτής της μεταανάλυσης επέκτεινε το ενδιαφέρον στην μελέτη του ασυμπτωματικού πληθυσμού, όμως τα

αποτελέσματα δε κατάφεραν να αναδείξουν αυτή τη συσχέτιση με την ίδια σημαντικότητα.<sup>352,353,354</sup>

Σε νεότερη μεταανάλυση η οποία συμπεριέλαβε 23 μελέτες τεκμηριώθηκε η συσχέτιση της τιμής της FMD με τον κίνδυνο μελλοντικής εκδήλωσης καρδιαγγειακών συμβαμάτων χωρίς όμως να μπορεί να τεκμηριωθεί σχέση αιτίου αιτιατού. Αυτή η σχέση αποδεικνύεται μόνο σε τρεις από τις συμπεριληφθείσες μελέτες οι οποίες κατέδειξαν μειωμένο ποσοστά εμφάνισης συμβαμάτων μετά από βελτίωση της FMD μέσω χορήγησης φαρμάκων ή αλλαγής του τρόπου ζωής. Το κυριότερο πεδίο ερεύνης στο οποίο στράφηκε το ενδιαφέρον κατά την μεταανάλυση όμως είναι ο ασυμπτωματικός πληθυσμός και αν η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μπορεί να δράσει αποτρεπτικά στην εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η βελτίωση της FMD συσχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση τόσο για τον ασυμπτωματικό πληθυσμό όσο και για τους ασθενείς με τεκμηριωμένη καρδιαγγειακή νόσο, όμως η συσχέτιση αυτή δεν είναι τόσο ισχυρή για την ομάδα του ασυμπτωματικού πληθυσμού όσο είναι για την ομάδα των ασθενών.

#### Η FMD ως μέθοδος εκτίμησης της αποτελεσματικότητας θεραπευτικών πρωτοκόλλων

Βασικά μειονεκτήματα της FMD αποτελούν: η έλλειψη τυποποίησης εκτέλεσης της μεθόδου, αλλά και η εσωτερική διακύμανση της ίδιας της FMD μεταξύ του ίδιου ή μεταξύ διαφορετικών εξεταστών. Τα παραπάνω δεν επιτρέπουν τον ακριβή προσδιορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου σε ατομικό επίπεδο. Αν όχι το βασικότερο, ένα από τα πλέον βασικά πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι, σε παρεμβατικές μελέτες, τόσο

τροποποίησης του τρόπου ζωής όσο και χορήγησης φαρμάκων, μπορεί να αποκαλύψει άμεσα την υποκείμενη βελτίωση (ή επιδείνωση) της λειτουργίας του ενδοθηλίου σε ελάχιστο χρονικό διάστημα, μερικών μηνών. Αυτό κρίνεται ιδιαίτέρως σημαντικό όταν αφορά σε παρεμβάσεις τροποποίησης του καρδιαγγειακού ρίσκου. Επί παραδείγματι, μια παρεμβατική μελέτη ανάπτυξης ενός φαρμάκου που θα είχε σαν κύριο μέτρο έκβασης την μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί σε εύλογο χρονικό διάστημα καθώς θα απαιτείτο μακροχρόνια παρακολούθηση των ασθενών. Η ιδιότητα της FMD να ανταποκρίνεται άμεσα, σε οποιαδήποτε συνθήκες μπορεί να επηρεάσουν το ενδοθήλιο, την κάνει ιδανική ως εναλλακτική μέθοδο εκτίμησης (surrogate endpoint) του θεραπευτικού αποτελέσματος στα νοσήματα του καρδιαγγειακού συστήματος, καθώς δύναται να αποκαλύψει υποκλινικές αλλαγές. Έτσι μέχρι στιγμής έχει χρησιμοποιηθεί σε έρευνες που αφορούν σε αλλαγή του τρόπου ζωής σε παιδιά και ενήλικες,<sup>355,356</sup> σε εκτέλεση βαριατρικής χειρουργικής<sup>357</sup> και σε ανάπτυξη φαρμάκων όπως οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, η ασπιρίνη και η κλοπιδογρέλη.<sup>358,359,360</sup>

Σε αυτό το σημείο αξίζει να καταγραφεί ο κίνδυνος από την μη ορθή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Ο ερευνητής πρέπει να έχει υπόψιν ότι, η FMD δύναται να αξιολογήσει μόνο την δράση ενός φαρμάκου στην λειτουργία του ενδοθηλίου και επομένως είναι ενδεικτικό μέτρο αποτελεσματικότητας και μπορεί κατά περίπτωση να μην συσχετίζεται με πραγματικό όφελος έναντι της νοσηρότητας και της θνησιμότητας. Αν το συγκεκριμένο φάρμακο που δοκιμάζεται δύναται να επηρεάσει και άλλα συστήματα (π.χ. τον μηχανισμό της πήξης), μπορεί η επιβίωση μετά την χορήγηση να μην επηρεάζεται

καθόλου, η ακόμα και να επηρεάζεται αρνητικά. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί και η χορήγηση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης σε γυναίκες στην εμμηνόπαυση η οποία μπορεί να επιφέρει θετικό αποτέλεσμα στην FMD, όμως η μακροχρόνια χορήγηση δεν έχει φανεί ότι μπορεί να παρέχει δευτερογενή πρόληψη σε γυναίκες με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο.<sup>361,362,363</sup>

Συνεπώς, οι μελέτες που συμπεριλαμβάνουν την FMD ως μέτρο έκβασης οποιασδήποτε παρέμβασης θα πρέπει να συμπεριλαμβάνουν και περαιτέρω μετρήσεις οι οποίες συνολικά θα μπορούν να προβλέψουν με μεγαλύτερη ασφάλεια την πιθανή επίδραση της παρέμβασης στην νοσηρότητα και τη θνησιμότητα από τη νόσο. Σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να τυποποιείτε ειδικά για τον σκοπό της μελέτης η μεθοδολογία εκτέλεσης των μετρήσεων και εάν αυτό κρίνεται δυνατόν με τον ίδιο τύπο μηχανήματος από την ίδια ερευνητική ομάδα.

Όπως η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση μιας θεραπευτικής παρέμβασης, η μεγάλη της ευαισθησία ερευνητικά επιτρέπει την χρησιμοποίησή της και ως μέθοδος εκτίμησης της ασφάλειας, από την σκοπιά της ενδοθηλιακής λειτουργίας, κατά την φάση ανάπτυξης νέων φαρμάκων. Παράδειγμα αποτελεί το φάρμακο torcetrapib, το οποίο ενώ έδειξε σημαντικά αποτελέσματα στην αύξηση της HDL, συσχετίστηκε με αύξηση των εκδηλώσεων καρδιαγγειακής νόσου. Προηγούμενος έλεγχος της ενδοθηλιακής λειτουργικότητας έχει υποτεθεί ότι θα μπορούσε να είχε αποκαλύψει την δυσμενή του επίδραση από την αρχική φάση χορήγησης του φαρμάκου.<sup>364</sup>

## Συμπεράσματα

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία φαίνεται ότι αποτελεί ταυτόχρονα το σημείο αφετηρίας για την ανάπτυξη της καρδιαγγειακής νόσου, αλλά και βασικό παράγοντα πρόκλησης οξέων συμβαμάτων. Η FMD παρέχει μια φτηνή, μη επεμβατική μέθοδο εκτίμησης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας η οποία έχει μέχρι σήμερα χρησιμοποιηθεί σε έναν πολύ μεγάλο αριθμό ερευνών ανά τον κόσμο. Η μεγάλη πρόοδος που έχει σημειωθεί στον τομέα της τεχνολογίας αλλά και στην τυποποίηση της μεθόδου καθώς και η μεγάλη ευαισθησία της να αποκαλύπτει τις λειτουργικές διαταραχές του ενδοθηλίου την καθιστούν ιδανική για την παρακολούθηση των ασθενών κατά την διάρκεια παρεμβατικών μελετών. Η χρήση της FMD σαν αντιπροσωπευτικό μέτρο έκβασης των καρδιαγγειακών νοσημάτων μπορεί να εξοικονομήσει σημαντικό χρόνο αλλά και να μειώσει το κόστος που απαιτεί η εκτέλεση μιας μεγάλης κλίμακας παρεμβατικής μελέτης που θα αξιολογεί την εκδήλωση συμβαμάτων από το καρδιαγγειακό σύστημα.



## Πάχος έσω-μέσου χιτώνα – Intima media thickness (IMT)

Παρά το γεγονός ότι η αρτηριοσκλήρυνση παραμένει ασυμπτωματική για μεγάλο χρονικό διάστημα, υπάρχει πλειάδα δεδομένων που υποδεικνύουν ότι η μέτρηση της απόστασης μεταξύ του έσω και του μέσου χιτώνα (Intima Media Thickness / IMT) των μεγάλων αρτηριών με τη χρήση b-mode υπερηχογραφίας είναι ένας χρήσιμος και έγκυρος δείκτης για την πρόωμη διάγνωση της νόσου και τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο ιδιαίτερα στην παρακολούθηση της εξέλιξης της αθηρωματικής νόσου. Οι δύο κύριες αρτηρίες του οργανισμού που προσφέρονται προς υπερηχογραφική μελέτη του τοιχώματός τους είναι η καρωτίδα και η μηριαία αρτηρία, ενώ έχει αναφερθεί και η μέτρηση της αορτής. Από τις δυο κύριες αρτηρίες, η κοινή καρωτίδα θεωρείται ιδανικότερη καθώς στο τοίχωμα της μηριαίας αρτηρίας υπερτερεί το μυϊκό στοιχείο, εν αντιθέσει με την πρώτη όπου υπερτερεί ο συνδετικός ιστός. Τέλος έχει διατυπωθεί η άποψη ότι οι μετρήσεις στην μηριαία αρτηρία εμφανίζουν μικρότερη επαναληψιμότητα σε σχέση με την καρωτίδα <sup>365,366</sup>. Η μέτρηση του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα της καρωτίδας χρησιμοποιείται στις περισσότερες μελέτες σαν αντιπροσωπευτικός δείκτης της σοβαρότητας της αθηρωματικής νόσου προκειμένου να καθοριστεί ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων <sup>367, 368, 369, 370, 371, 372</sup>.

Η χρήση των μετρήσεων του IMT καρωτίδας (Carotid Intima – Media Thickness / CIMT) ως αντιπροσωπευτικού δείκτη στηρίζεται σε δύο βασικές αρχές. Πρώτον, καθώς η αρτηριοσκλήρυνση είναι συστηματική νόσος, θεωρείται ότι επηρεάζει περίπου στον ίδιο βαθμό όλα τα αγγεία του οργανισμού, οπότε η σοβαρότητα της νόσου στην καρωτίδα

αντικατοπτρίζει την έκταση των βλαβών στα στεφανιαία αγγεία. Δεύτερον, έχει αποδειχθεί ότι το πάχος του τοιχώματος των αγγείων είναι προγνωστικός δείκτης του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Συνεπώς κατά την εκτέλεση κλινικών παρεμβατικών μελετών το CIMT αποτελεί αποδεκτό αντιπροσωπευτικό δείκτη αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας μιας παρέμβασης στον καρδιαγγειακό κίνδυνο <sup>373, 374, 375, 376</sup>.

### Τεχνική της μέτρησης με B-mode υπερηχογραφία

Σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Υπερηχοκαρδιογραφίας, το τοίχωμα των αρτηριών θα πρέπει να μετριέται χρησιμοποιώντας συσκευή υπερήχων μεγάλης ακρίβειας και με ηχοβολέα συχνότητας τουλάχιστον 7MHz. Το βάθος σάρωσης θα πρέπει να ρυθμίζεται στην πλειονότητα των περιπτώσεων στα 4 εκατοστά προκειμένου να υπάρχει η μεγαλύτερη δυνατή ανάλυση, αν και σε παχύσαρκους ασθενείς μπορεί να χρειαστεί μεγαλύτερο (βάθος σάρωσης). Αξίζει να σημειωθεί σε αυτό το σημείο ότι η τάξη μεγέθους των συγκεκριμένων μετρήσεων είναι εξαιρετικά μικρή με αποτέλεσμα αλλαγές έστω και ενός pixel στην οθόνη λόγω διαφορετικής ανάλυσης να αντιστοιχούν σε κλινικά σημαντικές διαφορές στο IMT. Η χρήση της λειτουργίας zoom συνιστάται να αποφεύγεται για τους ακόλουθους λόγους: Σε ορισμένα μηχανήματα μπορεί να υπάρχει αλλοίωση της εικόνας, αλλάζει η σχετική θέση των ανατομικών οδηγών σημείων, είναι τεχνικά δυσκολότερη η διατήρηση σταθερής εικόνας και επιπλέον δεν υπάρχουν δεδομένα μετρήσεων από μεγάλες μελέτες με αυστηρά καθορισμένα πρωτόκολλα που να έχουν γίνει με την χρήση εικόνων με zoom.

Ενώ είναι γενικά αποδεκτό ότι η M-mode υπερηχογραφία μπορεί να δώσει εικόνες πολύ καλύτερης ανάλυσης, μπορεί να προσφέρει απεικόνιση και μετρήσεις σε ένα μόνο σημείο του τοιχώματος. Επειδή η πάχυνση του τοιχώματος στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν είναι ομοιόμορφη, μια μεμονωμένη μέτρηση, χωρίς να ληφθούν υπόψιν τυχόν αλλαγές του παρακείμενου τοιχώματος δεν θα ήταν επαρκής για να προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες. Με την b-mode υπερηχογραφία καθίσταται δυνατή η λήψη πολλαπλών μετρήσεων από τμήμα της αρτηρίας μήκους τουλάχιστον ενός εκατοστού.

Πρέπει να τονισθεί ότι καθώς το IMT είναι μέγεθος της τάξης δέκατου του χιλιοστού, για την ορθή εκτέλεση των μετρήσεων, ο υπερηχογραφικός εξοπλισμός θα πρέπει να είναι άρτια συντηρημένος και ρυθμισμένος για την εκτέλεση αυτών των συγκεκριμένων μετρήσεων. Επιπλέον οι μετρήσεις θα πρέπει να γίνονται απευθείας από το μηχάνημα των υπερήχων και όχι σε βιντεοσκοπημένες εικόνες από εξωτερικό επεξεργαστή, καθώς αυτές μπορεί να υστερούν σημαντικά σε ανάλυση.

Οι καρωτίδες λόγω της ανατομικής τους θέσεως και της μειωμένης τους κινητικότητας θεωρούνται ιδανικές για την εκτέλεση των μετρήσεων. Το IMT προσδιορίζεται από δυο παράλληλες ηχογενείς γραμμές που αντιστοιχούν στο έσω (lumen-intima) και το μέσο (media-adventitia) τοίχωμα. Προτιμάται η μέτρηση του εν τω βάθει τοιχώματος των αγγείων, σε αντίθεση με το επιπολής, καθώς η υπάρχουσα τεχνολογία υπερηχογραφικής απεικόνισης εξαρτάται πολύ από την ηχογένεια των ενδιάμεσων στρωμάτων που παρεμβάλλονται μεταξύ του ηχοβολέα και του υπό μελέτη ιστού. Η μεσολάβηση του αίματος, δημιουργεί έναν υποηχογενή αυλό (ο αυλός του αγγείου), και βελτιώνει κατά πολύ την ποιότητα της απεικόνισης του εν τω βάθει

τοιχώματος. Αντίθετα μεταξύ του επιπολής τοιχώματος και του ηχοβολέα παρεμβάλλεται το υπερηχογενές δέρμα με τους ιστούς του υποδορίου. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα οι μετρήσεις του επιπολής τοιχώματος του αγγείου να έχουν μειωμένη ακρίβεια (και επαναληψιμότητα) η οποία έχει αναφερθεί ότι μπορεί να διαφέρει έως και 20% από τις παθολογοανατομικές μετρήσεις.<sup>377</sup>

Αντικείμενο αντιπαραθέσεων έχει αποτελέσει και το ακριβές ανατομικό σημείο της καρωτίδας για την εκτέλεση των μετρήσεων. Υπάρχουν δεδομένα τα οποία υποστηρίζουν ότι η αθηρωματική νόσος και κατά συνέπεια ο βαθμός εξέλιξης του IMT, είναι σαφώς ταχύτερος στον διχασμό της καρωτίδας και στην έσω καρωτίδα, γεγονός το οποίο πιθανολογείται ότι οφείλεται στην τυρβώδη ροή που αναπτύσσεται στα συγκεκριμένα σημεία.<sup>378</sup> Στην κλινική εφαρμογή προτείνεται οι μετρήσεις να εκτελούνται στην κοινή καρωτίδα, όμως ενθαρρύνεται η μελέτη όλων των σημείων για τον εντοπισμό πιθανών αθηροσκληρυντικών πλακών και πληρέστερη μελέτη του εξεταζόμενου. Επιπλέον έχει προταθεί η κυκλοτερής σάρωση όλου του αυλού της καρωτίδας χρησιμοποιώντας ένα ειδικό όργανο (Meijer arc) σαν οδηγός για μεγαλύτερη ακρίβεια προκειμένου να μελετάται καλύτερα το αγγείο.

Συνολικά τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι τα ακόλουθα:

- 1) Είναι μη επεμβατική μέθοδος, η οποία επιπλέον δεν χρησιμοποιεί ιοντίζουσα ακτινοβολία όπως οι ακτίνες X που χρησιμοποιούνται σε άλλες μεθόδους εξέτασης, με αποτέλεσμα να καθίσταται δυνατή η εκτέλεση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων.
- 2) Παρά την αρχική εκπαίδευση που απαιτείται είναι σχετικά απλή παρακλινική εξέταση.

3) Δεν έχει ιδιαίτερα υψηλό κόστος.

4) Η εμπειρία που έχει αποκτηθεί με τα χρόνια, η βελτίωση της μεθοδολογίας της εξέτασης και η θέσπιση κριτηρίων ορθής εκτέλεσης, έχει αυξήσει σημαντικά την διενέργεια μετρήσεων με υψηλού βαθμού επαναληψιμότητα.

5) Αποτελεί μία έγκυρη μέθοδο της οποίας τα αποτελέσματα έχουν επανειλημμένως διασταυρωθεί με αποτελέσματα ιστολογικών εξετάσεων.

#### Αλλαγές στο IMT και κίνδυνος ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

Όπως προαναφέρθηκε, η μέθοδος αυτή προσφέρει την δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της νόσου. Η αύξηση του IMT είναι προγνωστικός παράγοντας για την εκδήλωση συμβαμάτων από το καρδιαγγειακό σύστημα, σύμφωνα με μελέτες παρατήρησης. Τα παραπάνω ισχύουν τόσο σε ασθενείς με τεκμηριωμένη καρδιαγγειακή νόσο όσο και σε ασυμπτωματικό πληθυσμό. Επιπλέον, έχουν δημοσιευτεί πολλαπλές παρεμβατικές μελέτες όπου κατεδείχθη ότι: η μείωση του IMT συνοδεύεται από υποστροφή της αθηρωματικής νόσου και μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Συνολικά έχει αποδειχθεί ότι η μεταβολή του IMT αποτελεί έναν έγκυρο αντιπροσωπευτικό προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου.

## Μελέτες παρατήρησης – Observational Studies

Μεγάλος αριθμός μελετών έχει καταδείξει συσχέτιση του αυξημένου IMT με την υποκλινική αθηροσκλήρωση και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο.<sup>379</sup> Στην προοπτική μελέτη KINH που πραγματοποιήθηκε στην Φινλανδία, σε 1288 άνδρες με μέγιστο διάστημα παρακολούθησης τα 2,5 έτη, η ύπαρξη πάχυνσης του IMT μεγαλύτερη από το 1 χιλιοστό συσχετίστηκε με 2.2 φορές αύξηση του κινδύνου εκδήλωσης εμφράγματος του μυοκαρδίου, ενώ η παρουσία δομικών αλλαγών στις κοινές κρωτίδες ή στους κρωτιδικούς βολβούς συσχετίστηκε με 3.3 φορές (95% CI: 1.31-8.29) μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης εμφράγματος του μυοκαρδίου<sup>380</sup>. Στην μελέτη του Rotterdam σε 5851 ασθενείς κατεδείχθη επίσης ότι αύξηση του IMT στην κρωτίδα συσχετίζεται με αύξηση του κινδύνου αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου και εμφράγματος του μυοκαρδίου. Συγκεκριμένα, αύξηση του πάχους κατά 0.163 χιλιοστά συσχετίστηκε με σχετικό κίνδυνο 1.41 (95% CI 1.25–1.82) για εγκεφαλικό επεισόδιο και 1.43 (95% CI 1.16–1.78) για έμφραγμα του μυοκαρδίου. Στην μελέτη ARIC η οποία συμπεριέλαβε περισσότερα από 12000 άτομα, τόσο άνδρες όσο και γυναίκες, μέσο IMT μεγαλύτερο του ενός χιλιοστού στην κρωτίδα συσχετίστηκε με 1.85 και 5.07 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου στους άνδρες και στις γυναίκες, αντίστοιχα σε σύγκριση με άτομα με IMT μικρότερο του ενός χιλιοστού. Επιπλέον η ίδια μελέτη συσχέτισε το αυξημένο IMT (>1 χιλ.) με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφράγματος και στα δύο φύλα σε σύγκριση με άτομα με IMT μικρότερο των 0.6 χιλιοστών<sup>381,382</sup>. Η μελέτη CHS, συμπεριέλαβε 5858 υγιείς ενήλικες μεγάλης ηλικίας δίχως ιστορικό ύποπτο για καρδιαγγειακή νόσο, με χρονικό διάστημα παρακολούθησης 6 ετών. Τα ευρήματά της κατέδειξαν ότι, άτομα που

βρίσκονται πάνω από την 95<sup>η</sup> Ε.Θ. έχουν σχετικό κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου 3.9 σε σχέση με τα άτομα που βρίσκονται στην 5<sup>η</sup> Ε.Θ <sup>383</sup>. Τέλος, δεδομένα από την μελέτη CAPS καταδεικνύουν ότι το αυξημένο IMT δεν έχει υψηλή προγνωστική αξία μόνο στους ενήλικες μεγάλης ηλικίας (>50 ετών), αλλά και σε νεότερα άτομα. <sup>384</sup>

## Παρεμβατικές Μελέτες

Ενώ τα δεδομένα από τις μελέτες παρατήρησης που καταδεικνύουν την συσχέτιση του IMT με τον μελλοντικό κίνδυνο εκδηλώσεως καρδιαγγειακών συμβαμάτων είναι καθ' όλα ενθαρρυντικά και αρκετά για την καθιέρωση της μεθόδου, είναι πολύ σημαντική και η διερεύνηση των πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των αλλαγών στο IMT σαν συνέπεια κάποιας θεραπευτικής παρέμβασης και της ενδεχόμενης μείωσης του καρδιαγγειακού κινδύνου.

Η μελέτη CLAS, παρείχε δεδομένα από μακροχρόνια παρακολούθηση 8.8 ετών κατά μέσο όρο 146 ανδρών με τεκμηριωμένη καρδιαγγειακή νόσο που ελάμβαναν είτε χολεστιπόλη και νιασίνη είτε placebo. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο σχετικός κίνδυνος για έμφραγμα του μυοκαρδίου, ή για άλλα συμβάματα από τα στεφανιαία αγγεία ήταν 2.2 και 3.1, αντίστοιχα, για κάθε ετήσια αύξηση του IMT κατά 0.03 χιλιοστά. <sup>385</sup> Σε μία μεταανάλυση 7 μελετών χορηγήσεως στατινών όπου κατεγράφησαν τόσο οι αλλαγές του IMT όσο και οι συχνότητες των καρδιαγγειακών συμβαμάτων κατεδείχθη ότι μέση μείωση του IMT της τάξης των 0.012 χιλιοστών ανά έτος μπορεί να μειώσει κατά 50% τον κίνδυνο εμφάνισης συμβαμάτων.

Προκειμένου να μειωθεί ο απαιτούμενος χρόνος και το κόστος της ολοκλήρωσης μιας μελέτης, οι κλινικές εκδηλώσεις της καρδιαγγειακής νόσου δεν συμπεριλαμβάνονται στα μέτρα έκβασης των σύγχρονων παρεμβατικών μελετών αλλά αρκεί μόνο η διαφοροποίηση του IMT σαν αντιπροσωπευτικό μέτρο έκβασης, δεδομένης της πολύ καλής συσχέτισής του με την καρδιαγγειακή νόσο.<sup>386,387</sup> Τα συμπεράσματα αυτά τονίζονται και στην προαναφερθείσα μετα-ανάλυση των μελετών χορήγησης στατινών όπου τεκμηριώνεται ότι το IMT είναι ένας έγκυρος δείκτης ο οποίος πληροί όλα τα κριτήρια της αντιπροσώπευσης των καρδιαγγειακών συμβαμάτων στις μελέτες χορήγησης στατινών<sup>388</sup>. Παρόμοια αποτελέσματα δημοσιεύτηκαν και σε μετα-ανάλυση 22 μεγάλων τυχαιοποιημένων μελετών της επίδρασης της μειωμένης πίεσης στο καρωτιδικό IMT. Σε αυτή τη μετα-ανάλυση φάνηκε ότι η θεραπεία κατά της υπέρτασης είτε με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, είτε με β-αποκλειστές είτε με αναστολείς διαύλων ασβεστίου, σε σύγκριση με τη χορήγηση placebo οδηγεί σε μείωση του καρωτιδικού IMT κατά 0.007 χιλιοστά/έτος.

Ενώ υπάρχουν αδιαμφισβήτητα δεδομένα που υποστηρίζουν την χρήση του IMT, σαν αντιπροσωπευτικό δείκτη της αθηρωματικής νόσου, σε υπολιπιδαιμικές και αντιυπερτασικές παρεμβάσεις, έχουν παράλληλα δημοσιευθεί και μερικές μελέτες, ειδικότερα σε διαβητικούς ασθενείς, που αμφισβητούν την εγκυρότητα του IMT, σαν αντιπροσωπευτικό δείκτη. Παράδειγμα αποτελεί η μελέτη CERDIA, όπου συμμετείχαν ασθενείς με διαβήτη τύπου II, χωρίς κλινικά εκδηλωμένη νόσο του καρδιαγγειακού, που ελάμβαναν είτε στατίνη, είτε placebo. Κατά την διάρκεια της μελέτης παρόλο που δεν εμφανίστηκε στατιστικά σημαντική μείωση του IMT στην καρωτίδα σε σημεία που δεν



είχαν αναπτυχθεί αθηρωματικές πλάκες, βρέθηκε πολύ σημαντική διαφορά στην συχνότητα εκδήλωση οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.<sup>389</sup> Παρόμοια ευρήματα δημοσιεύτηκαν και από την ομάδα της μελέτης SENDCAP. Η υπολιπιδαιμική αγωγή, με την χρήση φιμπράτης, επί τρία έτη, σε άτομα με διαβήτη τύπου ΙΙ, ελεύθερα καρδιαγγειακής νόσου, ανέδειξε σαφή μείωση στην συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Παρόλα τα προαναφερθέντα, το πάχος του IMT δεν μεταβλήθηκε στην συγκεκριμένη μελέτη<sup>390</sup>. Μια απλή ερμηνεία στα ευρήματα των δύο προαναφερθεισών μελετών θα μπορούσε να είναι ότι "οι αλλαγές του πάχους του αγγειακού τοιχώματος στους διαβητικούς ασθενείς επισυμβαίνουν με αργότερους ρυθμούς από ότι στον γενικό πληθυσμό".

Η αλλαγή στο IMT, και ιδιαιτέρως της καρωτίδας έχει χρησιμοποιηθεί σαν αντιπροσωπευτικός δείκτης μέχρι σήμερα και σε άλλου είδους μελέτες, πέρα από την χορήγηση αντιυπερτασικής και υπολιπιδαιμικής αγωγής. Τέτοιες μελέτες συμπεριλαμβάνουν τους αναστολείς συγκόλλησης των αιμοπεταλίων, τους αντιοξειδωτικούς παράγοντες, αλλά και τη χορήγηση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης στην εμμηνόπαυση και σε νέες γυναίκες με υπογοναδισμό.<sup>391,392,393</sup>

<sup>394,395,396,397,398</sup>

Συγκεκριμένα, οι νέες γυναίκες με υπογοναδισμό (σύνδρομο Turner & πρόωμη ωοθηκική ανεπάρκεια) έχουν αυξημένο IMT σε σύγκριση με κορίτσια ή γυναίκες της ίδιας ηλικίας και φυσιολογική γοναδική λειτουργία.<sup>399</sup> Έχει διατυπωθεί ότι το αυξημένο IMT μπορεί να υποστραφεί σε φυσιολογικά επίπεδα μετά από χορήγηση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης. Αξίζει να σημειωθεί ότι το αποτέλεσμα είναι δόσοεξαρτώμενο, με την

μεγαλύτερη δόση να οδηγεί σε ταχύτερη βελτίωση του IMT. Δεν έχει αποσαφηνισθεί εάν το θετικό αποτέλεσμα οφείλετε στην δράση των οιστρογόνων στο αγγειακό τοίχωμα, ή στη θετική επίδραση της θεραπείας στο λιπιδαιμικό προφίλ. Σε μία από τις μεγαλύτερες μελέτες επίδρασης της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα των εμμηνόπαυσιακών γυναικών, δεν βρέθηκε μεταβολή του IMT, και έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η θεραπεία υποκατάστασης μπορεί να ωφελήσει μόνο γυναίκες δίχως προϋπάρχουσα καρδιαγγειακή νόσο. Διατυπώθηκε η άποψη ότι η θεραπεία υποκατάστασης μπορεί να αναστρέψει την πορεία της αθηροσκλήρωσης μόνο σε νέες γυναίκες, σε αντίθεση με τις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση.

## Συμπεράσματα

Η μέτρηση του IMT με την b-mode υπερηχογραφία είναι ακριβής, ασφαλής και με μεγάλη επαναληψιμότητα, η οποία επιτρέπει την παρακολούθηση της εξέλιξης της αθηρωματικής νόσου. Επιπλέον μπορεί να εκτιμήσει τον κίνδυνο εμφάνισης οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων στο μέλλον. Όλες οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα έχουν τεκμηριώσει απόλυτα την εγκυρότητα του IMT σαν αντιπροσωπευτικό δείκτη της αθηρωματικής νόσου, προκειμένου να μπορεί να χρησιμοποιείται κατά την εκτέλεση μελετών.

Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι αντιπροσωπεύει μόνο τον κίνδυνο συμβαμάτων που συσχετίζονται με την έκταση της αθηρωματικής νόσου και δεν μπορεί να εκτιμήσει τον κίνδυνο για συμβάματα που προκαλούνται από την συμμετοχή άλλων παραγόντων.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ξανά ότι κατά την αξιολόγηση μιας θεραπευτικής παρέμβασης με την χρήση του IMT μόνο, ενώ προσφέρει τον βαθμό επίδρασης της παρέμβασης στον καρδιαγγειακό κίνδυνο, δεν μπορεί να εκτιμήσει πιθανές άλλες επιδράσεις σε αυτόν, (π.χ. από τον μηχανισμό της πήξης ή από ένα άλλο άγνωστο μέχρι στιγμής μηχανισμό), γι' αυτό και είναι σκόπιμο ερευνητικά να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους αντιπροσωπευτικούς δείκτες.

## Επίδραση της ορμονικής θεραπείας στο καρδιαγγειακό σύστημα των φαινοτυπικά θηλέων ατόμων με αμιγή ή μεικτή γοναδική δυσγενεσία τύπου XY ή με διαταραχές διαφοροποίησης του φύλου με καρυότυπο XY

### Εισαγωγή – Σκοπός της μελέτης

Οι διαταραχές ανάπτυξης του φύλου (Disorders of Sexual Development =DSD) και συγκεκριμένα οι 46,XY DSD είναι αποτέλεσμα διαταραχών κατά την εμβρυονική περίοδο και συγκεκριμένα κατά το στάδιο της διαφοροποίησης των διδύναμων γονάδων, ή των έσω και έξω γεννητικών οργάνων. Στις 46,XY DSD όπως εκτενώς έχει αναπτυχθεί στο γενικό τμήμα περιλαμβάνονται από απλά υπογόνιμους άνδρες, έως άτομα με γεννητικά όργανα αμφιβόλου φύλου ή φαινοτυπικά θήλεα με καρυότυπο άρρενος 46,XY. Τα συχνότερα αίτια των φαινοτυπικά θηλέων με καρυότυπο άρρενος 46,XY είναι: α) η αποτυχία διαφοροποίησης της διδύναμης γονάδας προς όρχι (XY γοναδική δυσγενεσία – Σύνδρομο Swyer) και β) η αδυναμία δράσης των ανδρογόνων (Σύνδρομο πλήρους έλλειψης ευαισθησίας στα ανδρογόνα = Complete Androgen Insensitivity Syndrome = CAIS). Στην πρώτη περίπτωση (Σύνδρομο Swyer) οι δυσγενετικές γονάδες δεν παράγουν ούτε Τεστοστερόνη (T) ούτε Αντι-Μυλλέριο Ορμόνη (Anti-Müllerian Hormone = AMH) κατά την διάρκεια της οργανογένεσης του εμβρύου, με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός ατόμου με εξωτερικά γεννητικά όργανα θήλεος, κόλπο και μήτρα. Λόγω του υψηλού ποσοστού εκδήλωσης δυσγερμινώματος και γοναδοβλαστώματος από αυτές τις γονάδες, οι τελευταίες πρέπει να αφαιρούνται μόλις τεθεί η διάγνωση. Στην δεύτερη περίπτωση η γονάδα έχει διαφοροποιηθεί απόλυτα φυσιολογικά προς όρχι, ο οποίος εκκρίνει και τις δύο ορμόνες T και AMH. Το πρόβλημα εντοπίζεται στον υποδοχέα των Ανδρογόνων με αποτέλεσμα να μην προάγεται η ανάπτυξη των πόρων του Wolff. Επιπροσθέτως η φυσιολογική παραγωγή και δράση της AMH παρεμποδίζει την μετατροπή των πόρων του Müller προς σάλπιγγες, μήτρα και ανώτερο τμήμα

του κόλπου. Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι η γέννηση φαινοτυπικά θηλέων ατόμων με αβαθή κόλπο (κολπικό εντύπωμα), δίχως μήτρα και δίχως ωαγωγούς. Οι όρχεις μπορεί να ανευρεθούν σε οποιοδήποτε σημείο της πορείας που ακολουθούν κατά την κάθοδο τους από την κοιλιακή κοιλότητα στους βουβωνικούς πόρους έως τα μεγάλα χείλη του αιδοίου. Η καταλληλότερη περίοδος χειρουργικής εξαίρεσης των γονάδων αυτών είναι αμέσως μετά την ενήβωση προκειμένου να ελαττωθούν οι πιθανότητες κακοήθους εξαλλαγής.

Η έλλειψη οιστρογόνων, είτε συγγενής ή επίκτητη κατόπιν της χειρουργικής εξαίρεσης των γονάδων, στις δύο προαναφερθείσες ομάδες ΧΥ κοριτσιών, έχει σαν αποτέλεσμα την μη επίτευξη φυσιολογικής οστικής πυκνότητας, την μη ικανοποιητική σεξουαλική ζωή και την χαμηλή ποιότητα ζωής συνολικά <sup>400</sup>. Επιπροσθέτως, οι ασθενείς αυτών των ομάδων στερούνται της καρδιοπροστατευτικής δράσης των οιστρογόνων. Τα οιστρογόνα είναι παλαιόθεν γνωστό ότι ασκούν μια αντι-αθηροσκληρωτική δράση στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας <sup>401,402,403</sup>. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν δημοσιεύσεις που να μελετούν τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου στις 46,ΧΥ DSD ασθενείς, πιθανότατα λόγω της σπανιότητάς τους. Οι ασθενείς με Σύνδρομο Turner (TS) και οι ασθενείς με Πρώιμη Ωοθηκική Ανεπάρκεια (Primary Ovarian Insufficiency = POI) φαίνεται να έχουν παρόμοιο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου με τις ασθενείς της παρούσας μελέτης, αλλά αυτό μένει να αποδειχθεί. Ο καρδιαγγειακός κίνδυνος των TS και POI εκφράζεται ως έμφραγμα του μυοκαρδίου ή ως αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο<sup>404,405</sup>.

Η χορήγηση Θεραπείας Ορμονικής Υποκατάστασης (Hormone Replacement Therapy = HRT) μέχρι και την 5<sup>η</sup> δεκαετία ζωής των 46,ΧΥ DSD ασθενών έχει σαν στόχους: την επίτευξη και διατήρηση της φυσιολογικής οστικής πυκνότητας, την έναρξη και διατήρηση εμμήνου ρύσεως στις ασθενείς με Σ. Swyer και τέλος την φυσιολογική σεξουαλική δραστηριότητα <sup>400</sup>. Έχουν δημοσιευθεί πολλαπλές εργασίες που καταδεικνύουν την ευεργετική δράση της HRT στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία των ασθενών με TS και POI<sup>406,407,408,409</sup>. Μια σειρά μεγάλων διπλών

τυφλών τυχαιοποιημένων μελετών (Randomized Control Trials =RCTs), έχουν εστιάσει στην δράση της HRT στην καρδιαγγειακή νόσο των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και έχουν αναφέρει αλληλοσυγκρουόμενα αποτελέσματα όπως θετική, ουδέτερη έως και αρνητική επίδραση. Η ηλικία έναρξης της HRT φαίνεται ότι παίζει καθοριστικό ρόλο στην τελική επίδρασή της στο καρδιαγγειακό σύστημα των γυναικών αυτών <sup>410</sup>.

Έχουν προταθεί πολλαπλές μέθοδοι εκτίμησης του κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο και κυρίως μέθοδοι για την πρόωμη ανίχνευση του κινδύνου αυτού. Ανάμεσα στις παραπάνω μεθόδους οι δημοφιλέστερες είναι η εκτίμηση του λιπιδαιμικού προφίλ και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας μέσω υπερηχογραφικών και βιοχημικών παραμέτρων. Στο λιπιδαιμικό προφίλ περιλαμβάνονται οι μετρήσεις στον ορό του αίματος των παρακάτω: ολική χοληστερόλη (TC), λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL), τριγλυκερίδια (TG) και λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL). Οι παραπάνω μετρήσεις χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και την παρακολούθηση των νοσημάτων που σχετίζονται με τα λιπίδια όπως η αθηροσκλήρυνση. Αυξημένα επίπεδα TC, LDL και TG, ταυτόχρονα με χαμηλά επίπεδα HDL, έχουν πολλαπλάσια σχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο.<sup>411,412</sup> Η κλινική αξία των προαναφερθεισών μετρήσεων είναι μεγαλύτερη όταν οι μετρήσεις αυτές σχετίζονται μεταξύ τους. Ο αθηρωματικός δείκτης του πλάσματος (Atherogenic Index of Plasma = AIP)(γνωστός και ως τροποποιημένος αθηρωματικός δείκτης), υπολογίζεται ως ο λογάριθμος του λόγου TG/HDL με τις συγκεντρώσεις εκφρασμένες σε mmol/L [ $\log (TG/HDL-C)$ ], και έχει συσχετισθεί με την στεφανιαία νόσο. Θεωρείται ένας από τους πλέον ευαίσθητους προγνωστικούς παράγοντες για την καρδιαγγειακή νόσο <sup>413</sup>.

Οι βιοχημικοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου ήταν: η Καντχερίνη (VE-Cadherin), η Σελεκτίνη (E-selectin), ο παράγοντας von Willebrand (vWf) του πλάσματος και η διαλυτή Θρομβομοντουλίνη (soluble Thrombomodulin). Η VE-Cadherin (όψιμος δείκτης μη αναστρέψιμης δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου λόγω απώλειας

συνεκτικότητας) αποτελεί μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, ειδική για το ενδοθήλιο, η οποία διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση των εσωτερικών συνδέσεων των κυττάρων του ενδοθηλίου. Η αύξηση των κυκλοφορούντων στο πλάσμα, επιπέδων της VE-Cadherin καταδεικνύει μια αυξημένη διαπερατότητα του ενδοθηλίου και αντικατοπτρίζει τον βαθμό της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας<sup>414,415</sup>. Η E-selectin (πρώιμος δείκτης δυσλειτουργίας της ενδοθηλιογενούς προσκολλησιμότητας) αποτελεί ένα μόριο κυτταρικής προσκόλλησης το οποίο εμφανίζεται όταν επισυμβεί βλάβη του ενδοθηλίου. Αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούσας σελεκτίνης συνδυάζονται με εκτεταμένη ενδοθηλιακή βλάβη λόγω φλεγμονής<sup>416</sup>. Συγκεκριμένα, η σελεκτίνη αντικατοπτρίζει τα πρώιμα στάδια αλληλεπίδρασης μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και των κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων<sup>417,418</sup>. Ο παράγοντας vWf συμμετέχει στον (αιμοστατικό) μηχανισμό πήξης του αίματος και αποτελεί δείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, καθώς σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο (CVD)<sup>419</sup>. Η Θρομβομοντουλίνη αντίθετα ασκεί έναν προστατευτικό ρόλο στο ενδοθήλιο καθώς μειώνει την ανταπόκριση του ενδοθηλίου στα φλεγμονώδη ερεθίσματα<sup>420</sup>.

Επιπροσθέτως των προαναφερθέντων βιοχημικών δεικτών, χρησιμοποιήθηκαν και δυο υπερηχογραφικοί δείκτες: η ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (σφυγμική διασταλτικότητα/διατασιμότητα) (Flow-mediated Dilatation = FMD) και το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (Intima-media Thickness = IMT), οι οποίοι αποτελούν τους ευρύτερα διαδεδομένους δείκτες εκτίμησης της υποκλινικής αθηροσκλήρυνσης. Μέσω αυτών των δεικτών εκτιμώνται η λειτουργία και η δομή του αρτηριακού τοιχώματος αντίστοιχα, και συσχετίζονται με τον κίνδυνο για CVD.<sup>421,422</sup>

Στην μελέτη αυτή περιλήφθηκαν 46,XY DSD κορίτσια τα οποία είχαν προηγουμένως υποβληθεί σε γοναδεκτομή. Η επίδραση της ορμονικής θεραπείας, προ και 6 μήνες μετά,

εκτιμήθηκε μέσω μέτρησης των ορμονών, του λιπιδαιμικού προφίλ, των VE-cadherin, E-selectin, plasma vWf και soluble Thrombomodulin, καθώς και μέσω των υπερηχογραφικών FMD και IMT.



## Υλικό και Μέθοδοι

### Ασθενείς

Στην παρούσα μελέτη συμπεριελήφθησαν 8 ασθενείς με Σ. Swyer και 15 με Complete Androgen Insensitivity Syndrome. Όλοι οι παραπάνω ασθενείς είχαν παραπεμφθεί και παρακολουθούνταν στο Τμήμα Παιδικής Εφηβικής Γυναικολογίας & Επανορθωτικής Χειρουργικής της Β' Μαιευτικής Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο "Αρεταίειο" Νοσοκομείο. Οι ασθενείς οι οποίες διαγνώστηκαν για πρώτη φορά ως ΧΥ κορίτσια, υπεβλήθησαν αρχικά σε γοναδεκτομή και τρεις μήνες μετά εντάχθηκαν στην μελέτη. Όσες ασθενείς δεν ελάμβαναν ορμονική θεραπεία (ΗΤ) τους τελευταίους μήνες εντάχθηκαν άμεσα στην μελέτη ενώ οι υπόλοιπες που ελάμβαναν ΗΤ, παρέμειναν για 3 μήνες χωρίς οποιαδήποτε αγωγή (3μηνη περίοδος έκλυσης). Από όλες τις ασθενείς ελήφθη ένα εκτενές ιστορικό και υποβλήθηκαν σε λεπτομερή φυσική εξέταση στην οποία μεταξύ άλλων, καταγράφηκαν: η ηλικία, το ύψος, το βάρος, υπολογίστηκε ο Δείκτης Σωματικής Μάζας (Body Mass Index = BMI), μετρήθηκε η Αρτηριακή Πίεση και καταγράφηκε η χρήση καπνού και/ή άλλων εξαρτησιογόνων ουσιών. Κριτήρια αποκλεισμού απετέλεσαν το οικογενειακό ή ατομικό ιστορικό θρομβοφιλίας, θρομβοεμβολικής νόσου, καρδιαγγειακής νόσου και η οικογενής υπερλιπιδαιμία. Επίσης εξαιρέθηκαν όσες ασθενείς κατά την φυσική εξέταση ή κατά τον εργαστηριακό έλεγχο αποδείχθηκε ότι έπασχαν από συστηματική φλεγμονώδη νόσο, σακχαρώδη διαβήτη, θυρεοειδοπάθεια, ή ελάμβαναν συστηματικά αντιφλεγμονώδη ή υπολιπιδαιμικά φάρμακα.

Η μονομερής μεμονωμένη μακροχρόνια χορήγηση οιστρογόνων στις ασθενείς με σ. Swyer ενέχει κινδύνους όπως δυσλειτουργική αιμορραγία της μήτρας, υπερπλασία του ενδομητρίου έως και καρκίνο του ενδομητρίου μετά από πολυετή αποκλειστική χορήγηση. Τα παραπάνω

προλαμβάνονται με την προσθήκη κυκλικώς χορηγούμενου προγεσταγόνου. Αντίθετα στο Complete Androgens Insensitivity Syndrome (CAIS), λόγω έλλειψης μήτρας, οι ασθενείς αυτές δεν διατρέχουν τους προαναφερθέντες κινδύνους και δεν χρήζουν την προσθήκη προγεσταγόνων. Στην παρούσα μελέτη των ΧΥ κοριτσιών προκειμένου να αποφευχθούν συγκεχυμένα αποτελέσματα από την απουσία του προγεσταγόνου, χορηγήθηκε το ίδιο θεραπευτικό σχήμα ορμονικής θεραπείας αποτελούμενο από 2mg 17b-estradiol/1mg norethisterone acetate.

Η συμμορφωσιμότητα απετέλεσε μια σημαντική παράμετρο της παρούσας μελέτης. Οι ασθενείς με Σ. Swyer εμφάνιζαν αιμόρροια εξ απόσυρσης (αποδεικτικό ορθής λήψης της αγωγής) την οποία καλούνταν να καταγράφουν σε ημερολόγιο εμμήνου ρύσεως. Δεν υπάρχει εργαστηριακός δείκτης ο οποίος να επιβεβαιώνει την ορθή λήψη της θεραπείας των συμμετεχουσών ασθενών με CAIS. Τα επίπεδα οιστραδιόλης του πλάσματος δεν αντικατοπτρίζουν την μακροχρόνια λήψη της θεραπείας. Η 17β-οιστραδιόλη που εμπεριέχεται στο χορηγηθέν σκεύασμα δεν έχει 24ωρη βιοδιαθεσιμότητα αλλά προκαλεί κατά ώσεις παροδική αύξηση της κυκλοφορούσας οιστραδιόλης πλάσματος. Επίσης η 17β-οιστραδιόλη δεν προκαλεί την αντίστοιχη με την αιθυνύλ-οιστραδιόλη αύξηση της SHBG (μία έναντι πολλαπλών ηπατικών διόδων αντίστοιχα) οπότε και αυτός ο δείκτης δεν αποτελούσε αξιόπιστο μέσο παρακολούθησης της συμμορφωσιμότητας. Όλες οι ασθενείς, πλην μιας με CAIS, οι οποίες έλαβαν θεραπεία Υποκατάστασης εμφάνισαν βελτίωση της FMD, εύρημα αποδεικτικό της συμμορφωσιμότητας. Η μη βελτίωση της FMD στην συγκεκριμένη μοναδική ασθενή πιθανά οφείλεται στο κάπνισμα και στην προχωρημένη ηλικία της (55 ετών) με αποτέλεσμα την απώλεια της ελαστικότητας των αγγείων. Από όλες τις ασθενείς ζητήθηκε να επιστρέφουν τα άδεια κουτιά του χορηγηθέντος σκευάσματος, ενώ οι μετρήσεις των LH και FSH απεδείκνυαν την καταστολή του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση από την εξωγενώς λαμβανόμενη ορμονική θεραπεία. Η απουσία control ασθενών οφείλεται στους παρακάτω δύο σημαντικούς λόγους: α) η χορήγηση εικονικού

φαρμάκου μετέτρεπε αυτόματα την μελέτη σε παρεμβατική και απαιτείτο υψηλό κόστος ασφάλισης εκάστης συμμετέχουσας ασθενούς & β) η παρατεταμένη διακοπή της ορμονικής θεραπείας, πέραν της τρίμηνης περιόδου έκπλυσης (wash out period) θεωρήθηκε αντιδεδοντολογική διότι θα παρέτεινε τα συμπτώματα της οιστρογονοπενίας (κολπική ξηρότητα, αγγειοκινητικά συμπτώματα) στα άτομα αυτά, τα οποία βιώνουν μια ήδη βεβαρημένη ψυχολογία. Η μελέτη αυτή εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Αρεταιείου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου και από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων ως μη παρεμβατική μελέτη. Όλες οι συμμετέχουσες ή οι γονείς/νόμιμοι κηδεμόνες υπέγραψαν έγγραφη συγκατάθεση προκειμένου να συμμετάσχουν και αφού προηγουμένως τους παρουσιάσθηκαν αναλυτικά τα πλεονεκτήματα και οι υποχρεώσεις τους κατά την διάρκεια διενέργειας της παρούσας μελέτης.

## Μετρήσεις

Η αιμοληψία και η υπερηχογραφική μελέτη των ασθενών διενεργήθηκε κατόπιν 12ωρης ολονύκτιας νηστείας, κατά την έναρξη της μελέτης και 6 μήνες μετά την λήψη της ορμονικής θεραπείας. Τα ληφθέντα δείγματα αίματος κατόπιν φυγοκέντρησης διατηρήθηκαν στους μείον 80°C σε μορφή πλάσματος και ορού. Όλα τα δείγματα, αρχικά και εξαμήνου, επεξεργάστηκαν και αναλύθηκαν ταυτόχρονα στο τέλος της μελέτης. Λόγω της σπανιότητας των συνδρόμων αυτών, η διάρκεια της μελέτης παρατάθηκε προκειμένου να συγκεντρωθεί ο απαιτούμενος αριθμός ασθενών .

## Μετρήσεις βιοχημικές και ορμονικές

Ολική Χοληστερόλη (TC), τριγλυκερίδια (TG), και λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL) μετρήθηκαν ενζυματικά από αυτόματο αναλυτή (ARCHITECT-ci8200, Abbott Diagnostics Laboratories). Η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) ανευρέθη με την χρήση της σχέσης -ισότητας Friedewald ( $LDL = (TC - TG) / 5 - HDL$ ). Ο τροποποιημένος αθηρωματικός δείκτης [Atherogenic Index of Plasma (AIP)], υπολογίστηκε με τον ακόλουθο αλγόριθμο  $AIP = \log(TC/HDL)$  (οι συγκεντρώσεις ήταν εκφρασμένες σε mmol/l) και οι ασθενείς κατετάγησαν σε τρεις υποκατηγορίες υψηλού ( $AIP > 0,21$ ), ενδιάμεσου ( $AIP 0,11 - 0,21$ ) ή χαμηλού κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο ( $AIP < 0,11$ ).<sup>423 424</sup>

Τα επίπεδα οιστραδιόλης πλάσματος υπολογίστηκαν μέσω του αναλυτή Architect i1000 (Abbott Ireland, Diagnostics Division), με ευαισθησία αναλυτή 10 pg/mL και με συνολικό συντελεστή διακύμανσης (CV%) κυμαινόμενο από 1.9% έως 7.1%. Η ολική Τεστοστερόνη

υπολογίσθηκε με τον ίδιο αναλυτή με CV% κυμαινόμενο από 3.1% έως 8.0%, και ευαισθησία αναλυτή 0.08 ng/mL. Η συγκέντρωση της Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) μετρήθηκε με ηλεκτροχημειοφωταύγεια ανοσοανάλυση στον αναλυτή Cobas e-411 (Roche Diagnostics). Ο συνολικός συντελεστής διακύμανσης CV% κυμάνθηκε μεταξύ 2.6% και 5.6%, και η ευαισθησία του αναλυτή υπολογίσθηκε σε 0.35 nmol/L. Ο δείκτης ελεύθερων ανδρογόνων [Free Androgen Index (FAI)] υπολογίσθηκε χρησιμοποιώντας τις τιμές της ολικής Τεστοστερόνης και της SHBG με την χρήση του ακόλουθου τύπου:  $FAI = \text{testosterone (ng/ml)} * 347 / SHBG \text{ (nmol/L)}$ .

Η συγκέντρωση της VE-Cadherin πλάσματος υπολογίσθηκε με μέθοδο two-site ELISA χρησιμοποιώντας εμπορικά αντιδραστήρια της Bender MedSystems (BMS253, Vienna, Austria). Η μεταβλητότητα-διακύμανση των μετρήσεων μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών και μεταξύ του ίδιου παρατηρητή ήταν 4.1% και 7.2% αντίστοιχα, με κατώτερο όριο ανίχνευσης τα 0.15 ng/mL.

Τα επίπεδα της διαλυτής E-selectin πλάσματος υπολογίσθηκαν με μέθοδο ELISA και εμπορικά αντιδραστήρια της Bender MedSystems (BMS205CE, Vienna, Austria). Το κατώτερο όριο ανίχνευσης ήταν 0.33 ng/ml. Η υπολογισθείσα μεταβλητότητα-διακύμανση των μετρήσεων μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών και μεταξύ του ίδιου παρατηρητή ήταν 5.4% και 6.0% αντίστοιχα.

Τα επίπεδα της διαλυτής Thrombomodulin μετρήθηκαν μέσω ενός εμπορικώς διαθέσιμου κιτ (αντιδραστηρίου) από την USCN Life Science Inc. με κατώτερο όριο ανίχνευσης χαμηλότερο από 0,041 ng/ml. Η μεταβλητότητα-διακύμανση των μετρήσεων μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών και μεταξύ του ίδιου παρατηρητή ήταν 8,1% και 9,8% αντίστοιχα.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του παράγοντα vWf πραγματοποιήθηκε με την χρήση ενός εμπορικού κυτίου ELISA (Diagnostic Grifols, DG-EIA vWF, 218008). Η μεταβλητότητα-διακύμανση των μετρήσεων μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών και μεταξύ του ίδιου παρατηρητή ήταν 0.40

και 6.6% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως ποσοστό επί των τιμών αναφοράς πλάσματος (%vWF).

## Flow Mediated Dilatation

Προετοιμασία ασθενών. Όλες οι μετρήσεις έγιναν κατόπιν νηστείας σε ήσυχο δωμάτιο με ελεγχόμενη θερμοκρασία. Το κάπνισμα είχε ζητηθεί να αποφευχθεί για 4 με 6 ώρες πριν την εξέταση. Η επιλογή σημείου για την εκτέλεση των μετρήσεων ήταν σαφέστατα καθορισμένη. Πριν την έναρξη της εξέτασης, η ασθενής παρέμεινε ήρεμη για τουλάχιστον 15 λεπτά προκειμένου να εξασφαλισθούν όσο το δυνατόν καλύτερες προϋποθέσεις για την εξέταση. Σε όλες τις περιπτώσεις μετρήθηκε η βραχιόνιος αρτηρία. Ελήφθησαν διαμήκεις τομές (επιμήκεις διατομές) της αρτηρίας με τη χρήση γραμμικού ηχοβολέα (linear probe) υψηλής ανάλυσης (7-12 MHz) συνδεδεμένο σε υπερηχογραφικό μηχάνημα υψηλής ανάλυσης (Vivid 7 Pro, GE), ενώ η υπό εξέταση ασθενής βρισκόταν ξαπλωμένη ανάσκελα με το χέρι να βρίσκεται υποστηριζόμενο σε θέση τέτοια ώστε να νιώθει άνετα (η ασθενής). Απεικονιζόταν σαφώς τόσο το εγγύς όσο και το άπω τοίχωμα της αρτηρίας. Οι μετρήσεις ελήφθησαν στην τελοδιαστολική φάση, η οποία αναγνωρίσθηκε από την έναρξη του επάρματος R στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Τέλος, αναγνωρίσθηκαν όλα τα παρακείμενα ανατομικά οδηγιά σημεία και χρησιμοποιήθηκε εξωτερικός μηχανισμός σταθεροποίησης του probe, προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι μετρήθηκε η διάμετρος του αγγείου στο ίδιο σημείο. Η απεικόνιση της βραχιονίου αρτηρίας έγινε 6 εκατοστά άνωθεν της προωλένιας αύλακας και η περιχειρίδα τοποθετήθηκε στο αντιβράχιο. Χρόνος παραμονής της φουσκωμένης περιχειρίδας ήταν 5 λεπτά σε πίεση 250mmHg. Η αύξηση της αρτηριακής ροής (αντιδραστική υπεραιμία) παρακολουθήθηκε για 90 δευτερόλεπτα. Η FMD υπολογίσθηκε ως το ποσοστό της μέγιστης διαφοράς στον αυλό του αγγείου μεταξύ της ηρεμίας και της αντιδραστικής υπεραιμίας.

Η μεταβλητότητα-διακύμανση των μετρήσεων της διαμέτρου της βραχιονίου αρτηρίας μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών και μεταξύ του ίδιου παρατηρητή, στο αγγειολογικό εργαστήριο, είναι  $0.1 \pm 0.12$  και  $0.08 \pm 0.19$  mm, αντίστοιχα.

### Πάχος Έσω-Μέσου Χιτώνα

Το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα [Intima-media Thickness (IMT)] μετρήθηκε τόσο στην δεξιά όσο και στην αριστερή Κοινή Καρωτίδα, [Common Carotid Artery (CCA)], στους καρωτιδικούς βολβούς [Carotid Bulb (CB)](δεξιό & αριστερό) και τις δύο έσω καρωτιδικές αρτηρίες [Internal Carotid Artery (ICA)] , μέσω ηχοβολέα σταθερής εγκάρσιας γωνίας σε B-mode υπερηχογραφική απεικόνιση (14.0 MHz επίπεδος γραμμικός ηχοβολέας πολλαπλών συχνοτήτων, Vivid 7 Pro, GE). Σε κάθε σημείο, διενεργήθηκαν 3 μετρήσεις του μέγιστου IMT στο άπω τοίχωμα της αρτηρίας και υπολογίσθηκε ο μέσος όρος των τιμών χωριστά για κάθε μία καρωτίδα. Το συνδυασμένο πάχος του έσω-μέσου χιτώνα υπολογίσθηκε από τον μέσο όρο των τιμών του δεξιού και του αριστερού καρωτιδικού IMT . Το IMT της μηριαίας αρτηρίας υπολογίσθηκε στο άπω τοίχωμα της αρτηρίας, ένα εκατοστό από τον διχασμό της μηριαίας αρτηρίας.

## Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics v.21 και η ανάλυση ισχύος (power analysis) με το πρόγραμμα G-Power 3.1.7. Όσον αφορά στην ανάλυση ισχύος, χρησιμοποιώντας πιλοτικά δεδομένα από υπερηχογραφικές μετρήσεις στους 10 πρώτους ασθενείς, ανευρέθη ότι δείγμα 16 ασθενών θα ήταν αρκετό για να ανιχνεύσει μέγεθος αποτελέσματος 0.9 στην FMD (ένα από τα κύρια μέτρα έκβασης της μελέτης που ήταν διαθέσιμο κατά την φάση της συλλογής του δείγματος) με ισχύ 90% και κίνδυνο σφάλματος τύπου ένα ίσο με 5% (έλεγχος δύο διευθύνσεων).

Ο έλεγχος κανονικότητας της κατανομής των μεταβλητών έγινε με Shapiro-Wilk test και χρησιμοποιώντας διαγράμματα Q-Q. Στους πίνακες οι κανονικά κατανομημένες μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση, ενώ οι υπόλοιπες μεταβλητές ως διάμεση τιμή και ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Οι τιμές των μεταβλητών πριν και μετά την θεραπεία συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας t-test κατά ζεύγη και Wilcoxon signed rank test, για κανονικά και μη κανονικά κατανομημένες τιμές των διαφορών τους, αντίστοιχα. Για τη μελέτη πιθανών γραμμικών συσχετίσεων υπολογίσθηκαν οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης Pearson και Spearman. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε στο επίπεδο του 0.05.



## Αποτελέσματα

Από τους 23 ασθενείς που αρχικά ενετάχθησαν στην μελέτη αυτή, 2 ασθενείς χάθηκαν κατά την διάρκεια εκτέλεσης του πρωτοκόλλου, ενώ μία ασθενής αποκλείστηκε λόγω μη συμμορφωσιμότητας. Οι υπόλοιπες 20 ασθενείς (7 με Σύνδρομο Swyer και 13 με CAIS) επέδειξαν επαρκή συμμόρφωση ως προς τις οδηγίες του πρωτοκόλλου. Τα ατομικά δημογραφικά στοιχεία των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη φαίνονται στον Πίνακα 1, ενώ στοιχεία που αφορούν στο BMI, την αρτηριακή πίεση, και το ορμονικό προφίλ των ασθενών πριν και μετά την χορήγηση αγωγής φαίνονται στον Πίνακα 2.

**Πίνακας 1.** Αναλυτικά στοιχεία των συμμετεχόντων ασθενών.

<b>Ασθενής</b>	<b>Διάγνωση</b>	<b>Ηλικία διάγνωσης</b>	<b>Ηλικία γοναδεκτομής</b>	<b>Ηλικία κατά τη συμμετοχή στη μελέτη</b>	<b>BMI στην έναρξη της αγωγής</b>	<b>Κάπνισμα</b>	<b>Προηγηθείσα αγωγή</b>
<b>1</b>	Σ. Swyer	18	18	29	29.39	Yes	10 years
<b>2</b>	CAIS	16	19	30	34.42	Yes	10 years
<b>3</b>	Σ. Swyer	15.5	16	16	18.32	No	-
<b>4</b>	CAIS	16	16.5	17	20.18	No	-
<b>5</b>	Σ. Swyer	16	16	16	19.50	No	-
<b>6</b>	CAIS	19	20	31	25.00	Yes	14 years
<b>7</b>	CAIS	17	17.5	18	22.00	No	-
<b>8</b>	CAIS	16	19	32	24.27	No	11 years
<b>9</b>	CAIS	19	20	27	31.00	Yes	7 years
<b>10</b>	CAIS	15	18	18	20.98	No	-
<b>11</b>	Σ. Swyer	15	15.5	16	19.50	No	-
<b>12</b>	Σ. Swyer	17	17.5	18	22.48	No	-
<b>13</b>	CAIS	19	19	19	21.00	No	-
<b>14</b>	CAIS	18	18	18	19.26	No	-
<b>15</b>	CAIS	18	19	26	29.39	No	7 years
<b>16</b>	CAIS	15	18	18	22.06	Yes	-
<b>17</b>	CAIS	15	18	29	31.50	Yes	11 years
<b>18</b>	Σ. Swyer	17	17	27	28.83	Yes	10 years
<b>19</b>	CAIS	17	18.5	19	20.00	No	-
<b>20</b>	Σ. Swyer	16.5	16.5	17	31.00	No	-

**Πίνακας 2.** Δημογραφικά χαρακτηριστικά και επίπεδα ορμονών των ασθενών προ και μετά τη χορήγηση εξαμήνου ορμονικής θεραπείας.

Μέση τιμή ± Τυπική απόκλιση ή Διάμεσος (Ενδοτεταρτημοριακό εύρος)	Προ Θεραπείας	Μετά Θεραπείαν	p-value
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	24.40 ± 4.910	23.01 ± 3.7	NS
<b>Συστολική Αρτηριακή Πίεση (mmHg)</b>	128.7 ± 13.3	125.2 ± 15.8	NS
<b>Διαστολική Αρτηριακή Πίεση (mmHg)</b>	78.6 ± 12.5	76.2 ± 13.8	NS
<b>Οιστραδιόλη (pg/ml)</b>	29 (28-42)	53 (33-59)	<b>0.034</b>
<b>Ολική Τεστοστερόνη (ng/ml)</b>	0.35 ± 0.21	0.34 ± 0.24	NS
<b>SHBG (nmol/l)</b>	48.55 (44.10- 55.07)	37.90 (34.47- 53.92)	NS
<b>Δείκτης Ελεύθερων Ανδρογόνων (FAI)</b>	2.6 (0.05-2.85)	2.35 (1.15-4.55)	NS

## Εργαστηριακή Αξιολόγηση του Θεραπευτικού Σχήματος

### Λιπιδαιμικό Προφίλ

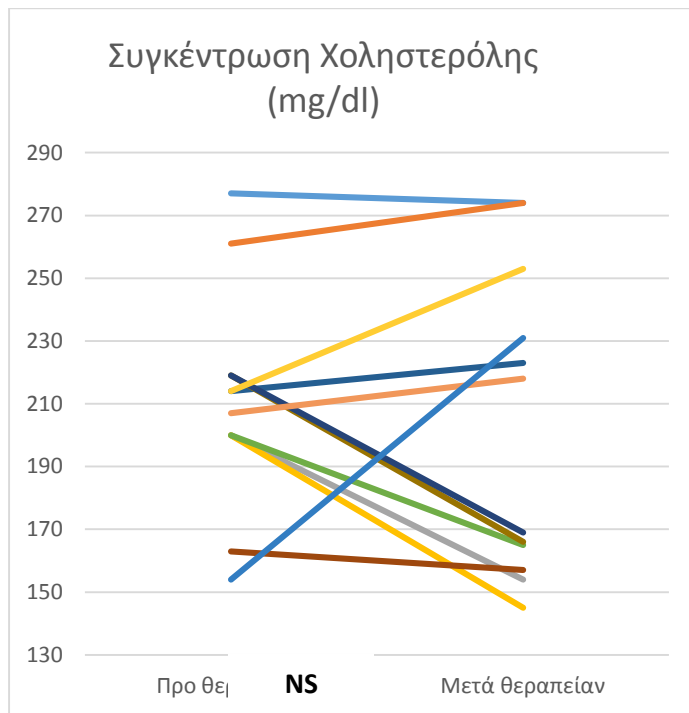
Η ΘΟΥ βελτίωσε το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών αυτών μέσω στατιστικά σημαντικής μείωσης των τριγλυκεριδίων και αύξησης της HDL. Δεν ανεδείχθη σημαντική μεταβολή των επιπέδων της LDL, με ισχύ 70% όπως αυτή φάνηκε με post-hoc ανάλυση ισχύος. Τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης επίσης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μεταβολή πιθανότατα λόγω του χαμηλού αριθμού ασθενών. Στατιστικά σημαντική ήταν και η μείωση του τροποποιημένου αθηρωματικού δείκτη AIP. Αναλυτικότερα τα αποτελέσματα που αφορούν στο λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών παρουσιάζονται τόσο στον Πίνακα 3 όσο και στα Διαγράμματα 1α - 1β έως 5α - 5β.

Ειδικότερα για τον AIP, ενώ πριν την έναρξη της ΘΟΥ το 50% των ασθενών κατατασσόταν στις ασθενείς υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (AIP >0.21), μόνο το 20% παρέμεινε στο ίδιο επίπεδο, παρότι σε όλες αυτές τις ασθενείς παρατηρήθηκε μείωση της απόλυτης τιμής του συγκεκριμένου δείκτη. Το υπόλοιπο 50% των ασθενών ανήκαν είτε στην ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου ή στη ομάδα χαμηλού κινδύνου προ της θεραπείας. Όλες οι ασθενείς μετά την θεραπεία εντάχθηκαν στην ομάδα χαμηλού κινδύνου.

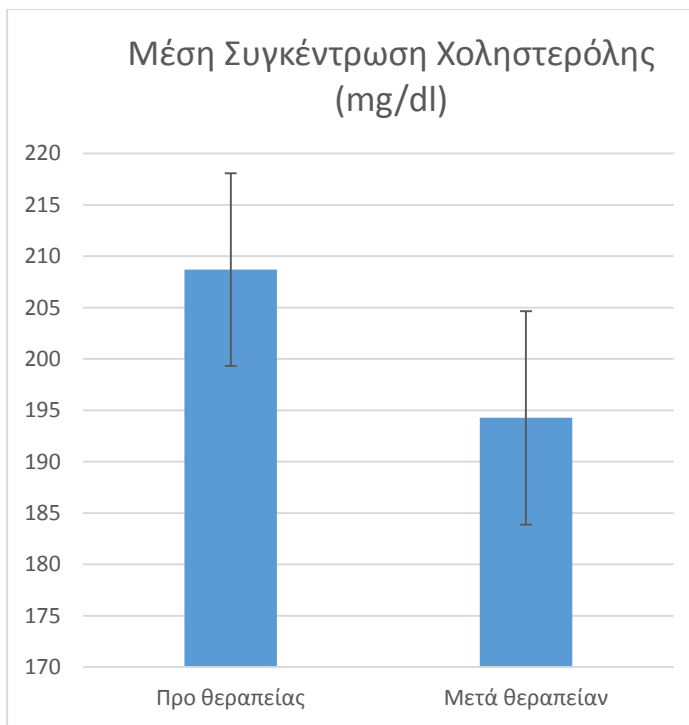
**Πίνακας 2.** Δημογραφικά χαρακτηριστικά, επίπεδα ορμονών και λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών προ και μετά τη χορήγηση εξαμήνης ορμονικής θεραπείας.

Μέση τιμή ± Τυπική απόκλιση Ή Διάμεσος (Ενδοτεταρτημοριακό εύρος)	Προ Θεραπείας	Μετά Θεραπείαν	p-value
Ολική Χοληστερόλη (mg/dl)	215.7 ± 43.9	192.25 ± 46.1	NS
LDL (mg/dl)	87.46 (72.36-125.9)	76.35 (60.79-109.03)	NS
HDL (mg/dl)	35.4 ± 8.4	40.1 ± 10.1	<b>0.019</b>
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	166 (84-206)	109 (86-142)	<b>0.026</b>
Τροποποιημένος Αθηρωματικός Δείκτης	0.24 (-0.10-0.48)	0.04 (-0.07-0.21)	<b>0.007</b>

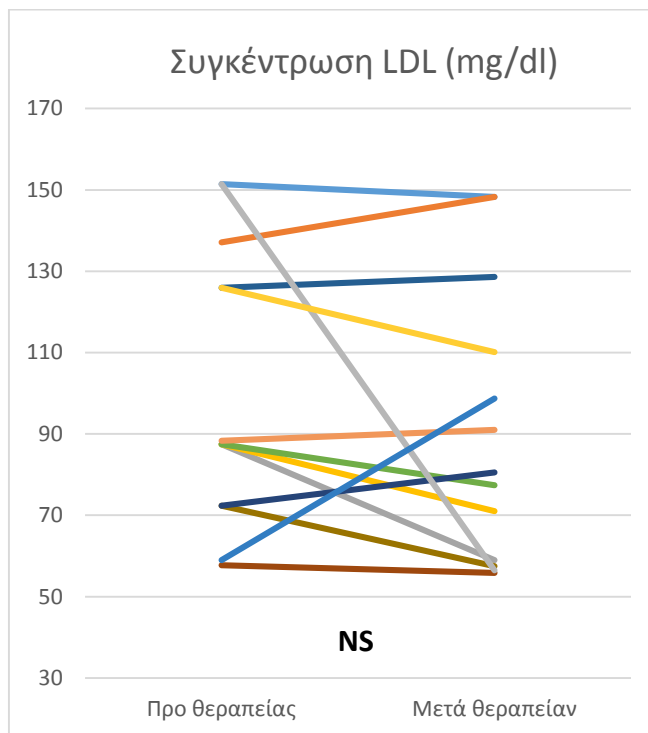
**Διάγραμμα 1α.** Επίπεδα **χοληστερόλης** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



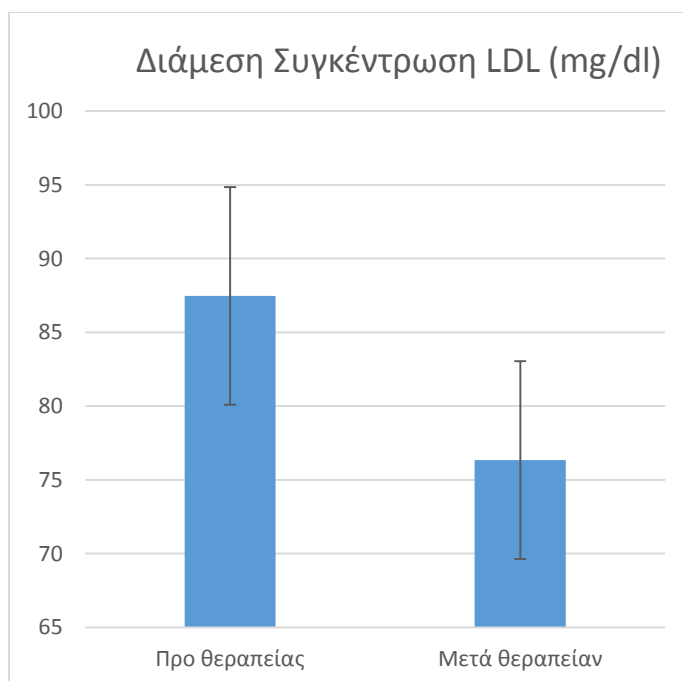
**Διάγραμμα 1β.** Μέση τιμή των επιπέδων **χοληστερόλης** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



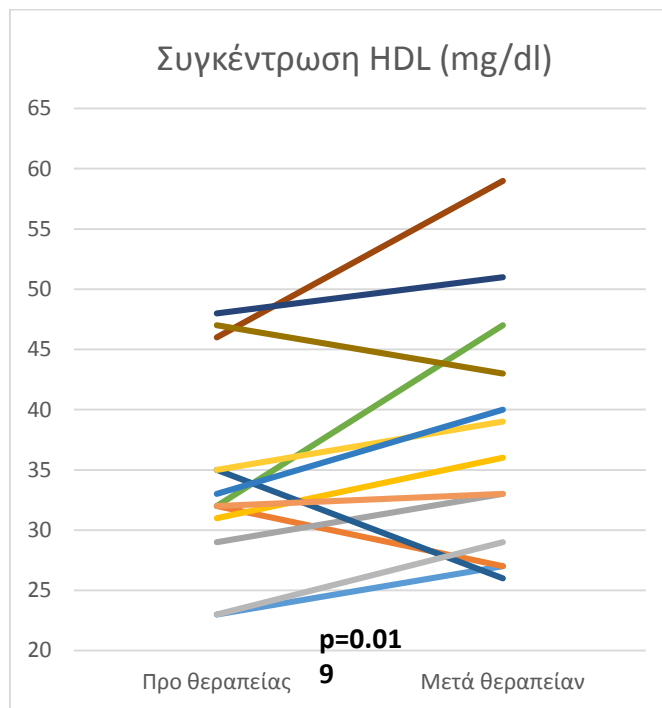
**Διάγραμμα 2α.** Επίπεδα **LDL** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ  
(κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



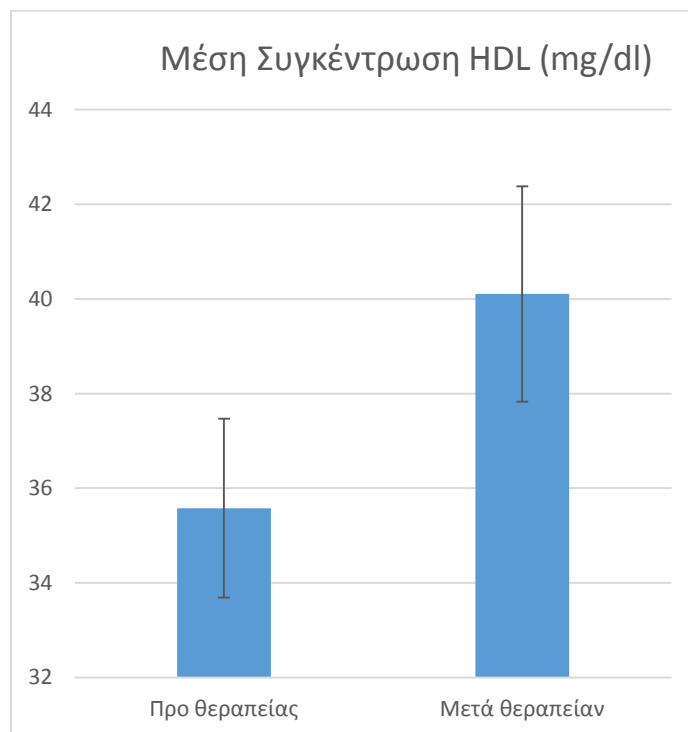
**Διάγραμμα 2β.** Διάμεση τιμή των επιπέδων **LDL** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



**Διάγραμμα 3α.** Επίπεδα **HDL** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ  
(κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)

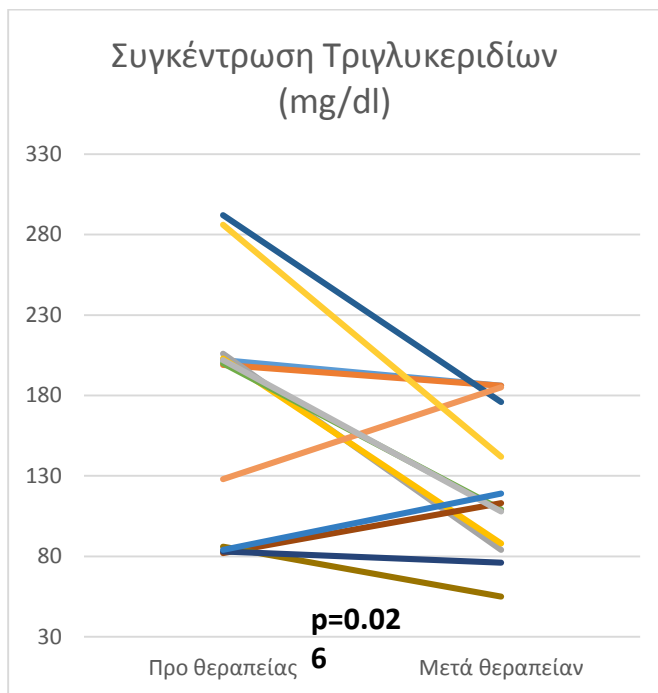


**Διάγραμμα 3β.** Μέση τιμή των επιπέδων της **HDL** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ

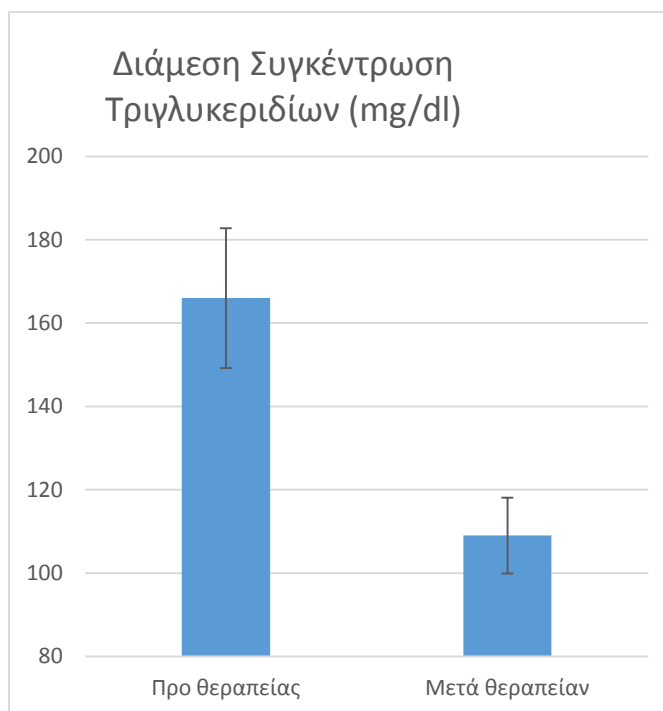




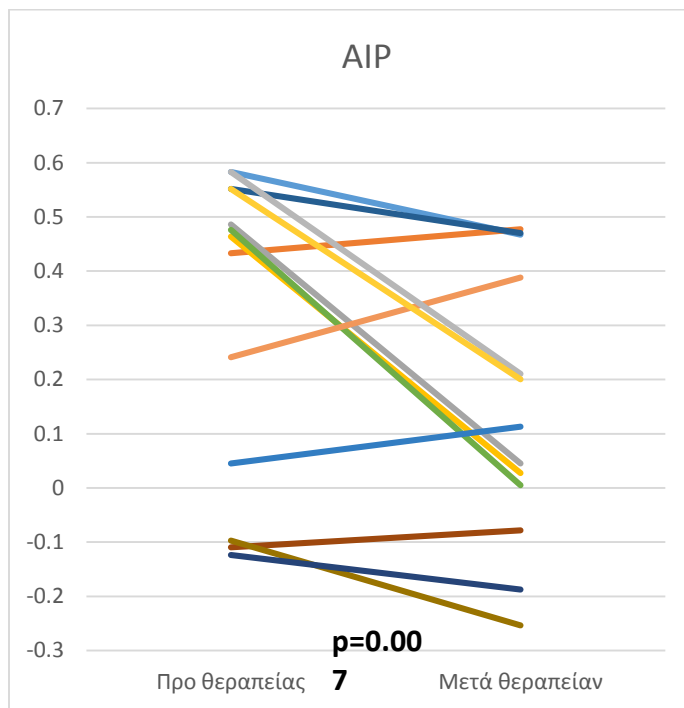
**Διάγραμμα 4α.** Επίπεδα **Τριγλυκεριδίων** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



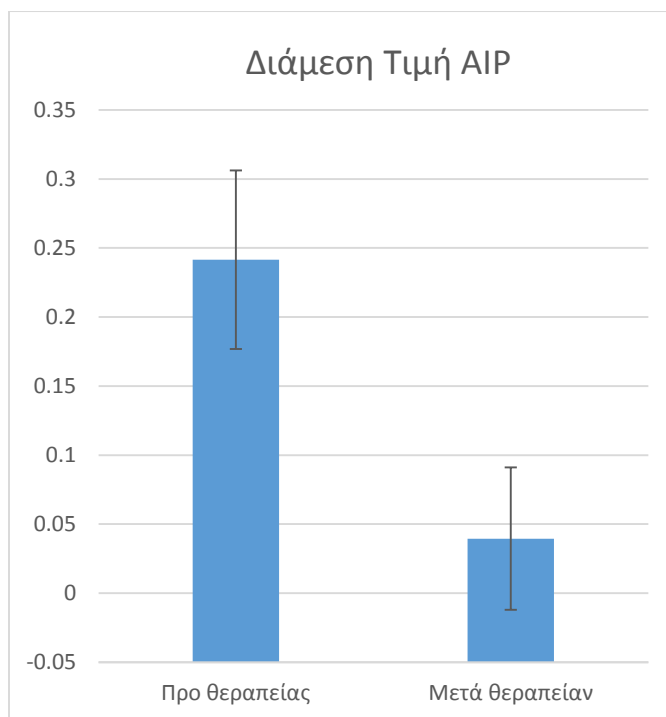
**Διάγραμμα 4β.** Διάμεση τιμή των επιπέδων των **Τριγλυκεριδίων** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



**Διάγραμμα 5α.** Τιμές **Τροποποιημένου Αθηρωματικού Δείκτη (ΑΙΡ)** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



**Διάγραμμα 5β.** Διάμεση τιμή του **Τροποποιημένου Αθηρωματικού Δείκτη (ΑΙΡ)** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



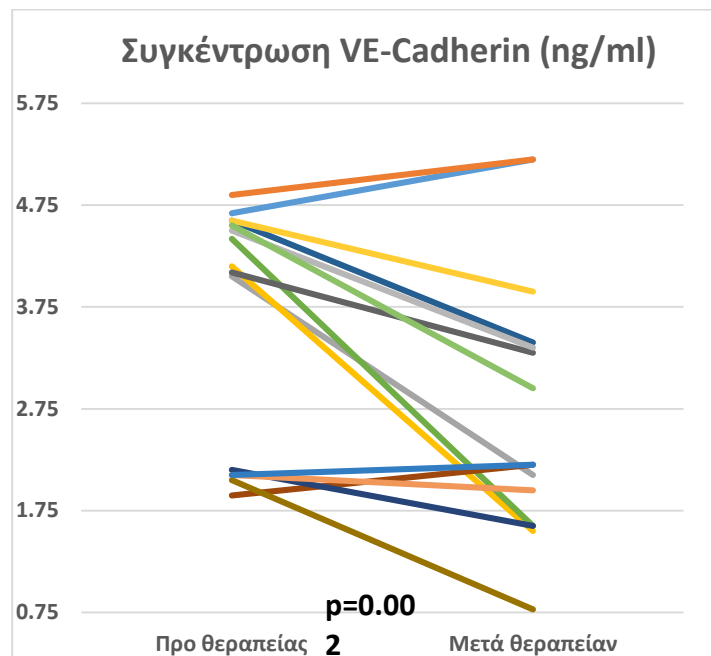
## Δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας πλάσματος.

Η μέση τιμή των επιπέδων της διαλυτής E-Selectin και της VE-Cadherin κατά την έναρξη της μελέτης ήταν 73.98 ng/ml και 3.41 ng/ml με ένα ενδοτεταρτημοριακό εύρος της τάξης των 11.71 ng/ml και 2.45 ng/ml, αντίστοιχα. Έξι μήνες μετά την θεραπεία και οι δύο παραπάνω δείκτες ενεμφάνισαν μείωση. [E-selectin 56.73ng/ml ( $p= 0.004$ ) και VE-Cadherin 2.68 ng/ml ( $p= 0.002$ )]. Αντίθετα τα επίπεδα της thrombomodulin και του παράγοντα vWf δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μεταβολή μετά την θεραπεία. Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα που αφορούν στους βιοχημικούς δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας των ασθενών παρουσιάζονται τόσο στον Πίνακα 4 όσο και στα Διαγράμματα 6α - 6β έως 9α - 9β.

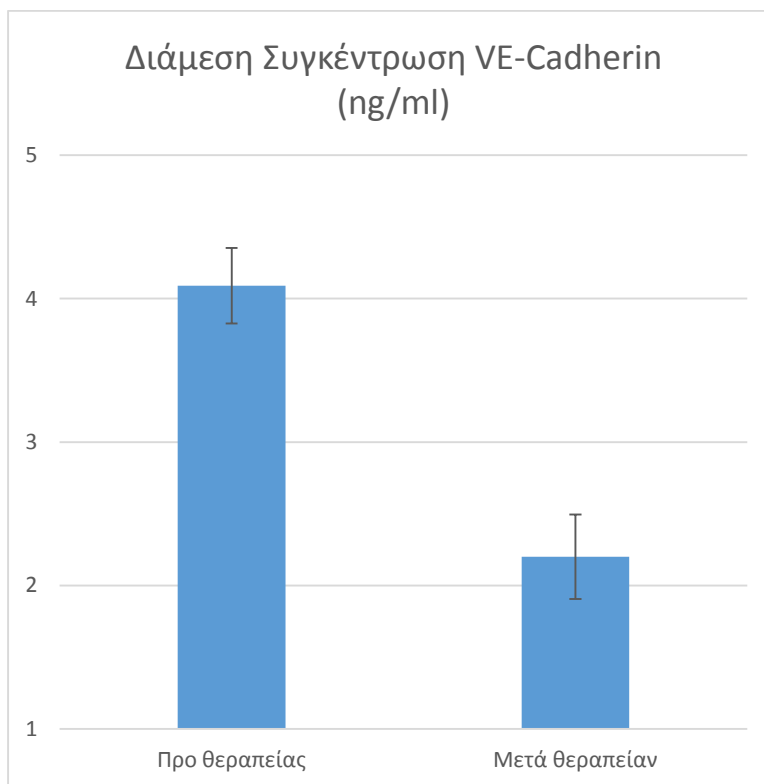
**Πίνακας 4.** Συγκριτικά αποτελέσματα βιοχημικών δεικτών της ενδοθηλιακής λειτουργίας πριν και μετά τη χορήγηση εξαμήνης ορμονικής θεραπείας.

Μέση τιμή ± Τυπική απόκλιση ή Διάμεσος (Ενδοτεταρτημοριακό εύρος)	Προ Θεραπείας	Μετά Θεραπείαν	p-value
<b>VE-Cadherin (ng/ml)</b>	4.05 (2.05-4.50)	2.20 (1.60-3.40)	<b>0.002</b>
<b>sE-Selectin (ng/ml)</b>	73.98 (69.79-81.50)	56.73 (46.08-70.79)	<b>0.004</b>
<b>sThrombomodulin (ng/ml)</b>	11.76 (10.98-41.78)	13.90 (7.92-21.50)	<b>NS</b>
<b>vWf (%)</b>	80.75 (44.83-96.60)	79.55 (53.17-94.70)	<b>NS</b>

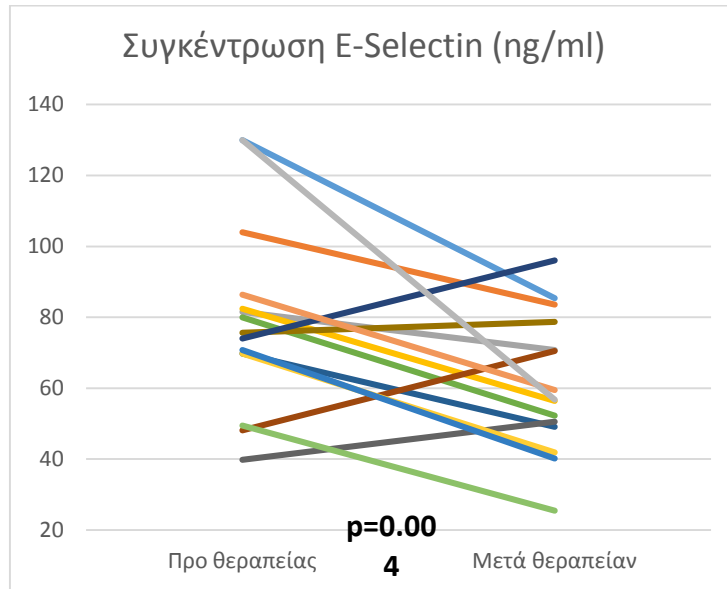
**Διάγραμμα 6α.** Επίπεδα της **VE-Cadherin** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



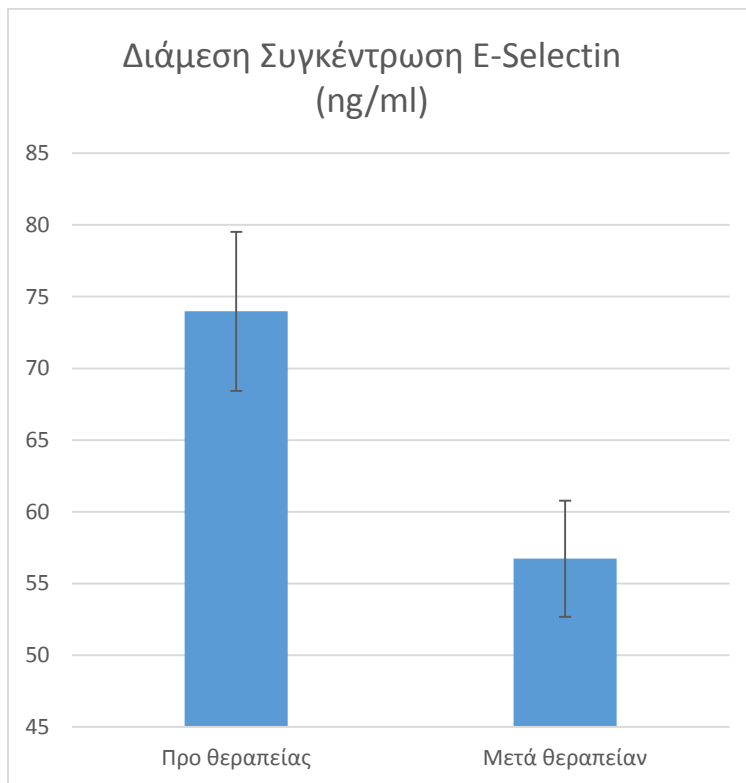
**Διάγραμμα 6β.** Διάμεση τιμή των επιπέδων της **VE-Cadherin** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



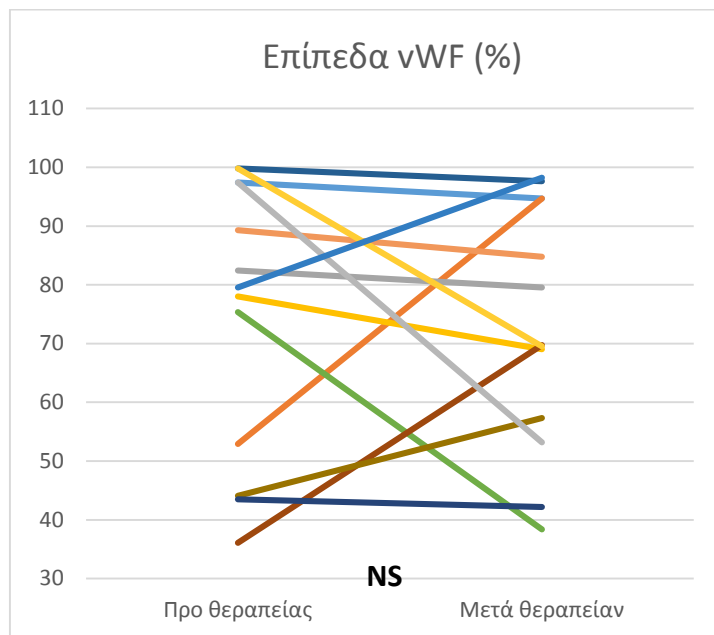
**Διάγραμμα 7α.** Επίπεδα της **E-Selectin** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



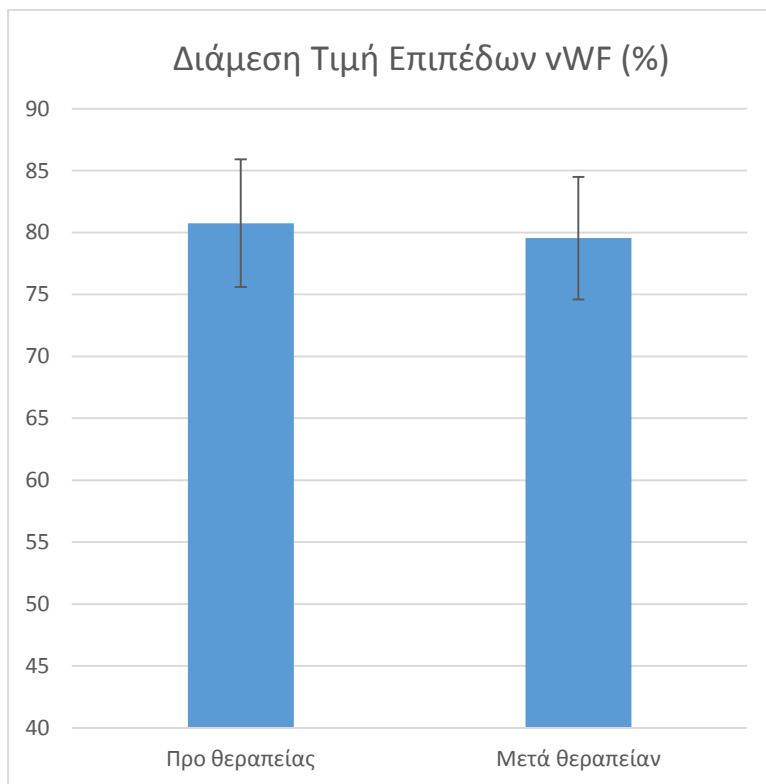
**Διάγραμμα 7β.** Διάμεση τιμή των επιπέδων της **E-Selectin** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



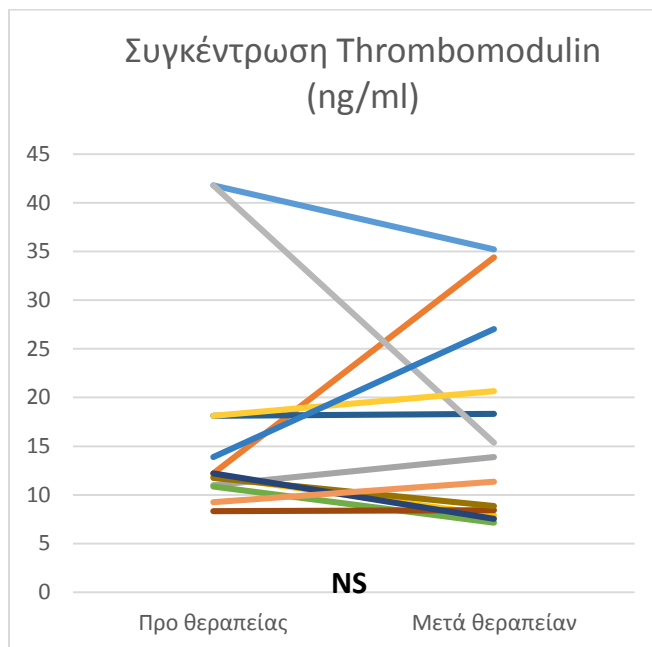
**Διάγραμμα 8α.** Επίπεδα του **vWF** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



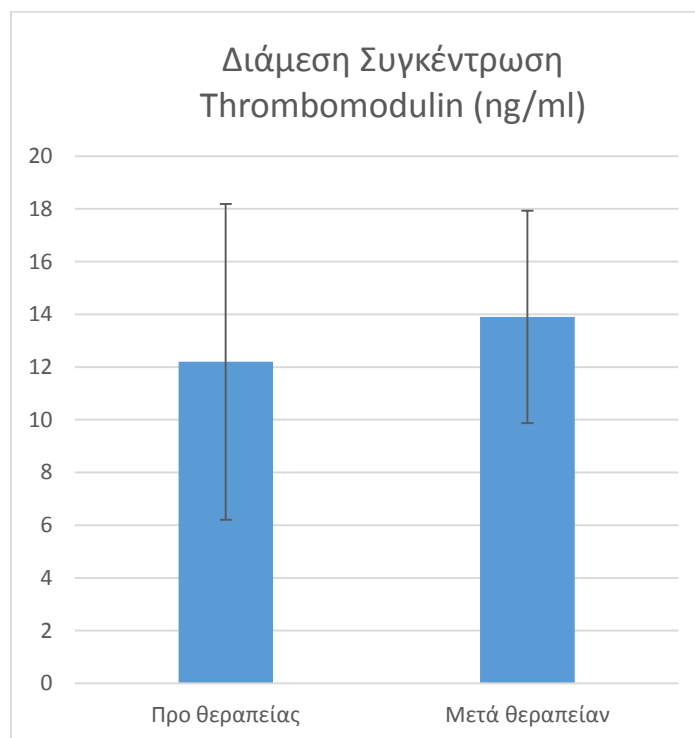
**Διάγραμμα 8β.** Διάμεση τιμή των επιπέδων του **vWF** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



**Διάγραμμα 9α.** Επίπεδα της **s Thrombomodulin** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



**Διάγραμμα 9β.** Διάμεση τιμή των επιπέδων της **s Thrombomodulin** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



## Υπερηχογραφικά ευρήματα

Η FMD (ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) ήταν στατιστικά σημαντικά ( $p=0.003$ ) υψηλότερη μετά την θεραπεία ( $8.15 \pm 2.76$ ) σχετιζόμενη με τις τιμές κατά την έναρξη της μελέτης ( $5.40 \pm 1.82$ ).

Σε ότι αφορά στις μετρήσεις του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα (IMT) των δεξιών & αριστερών καρωτιδικών και μηριαίων αρτηριών, στατιστικά σημαντική μείωση εντοπίστηκε μόνο στον καρωτιδικό βολβό από  $0.066 \pm 0.017$  σε  $0.056 \pm 0.013$ . Οι υπόλοιπες μετρήσεις, στην κοινή καρωτίδα, στην έσω καρωτίδα και στην μηριαία, καθώς και το συνδυασμένο IMT, δεν παρουσίασαν μεταβολές στατιστικά σημαντικές.

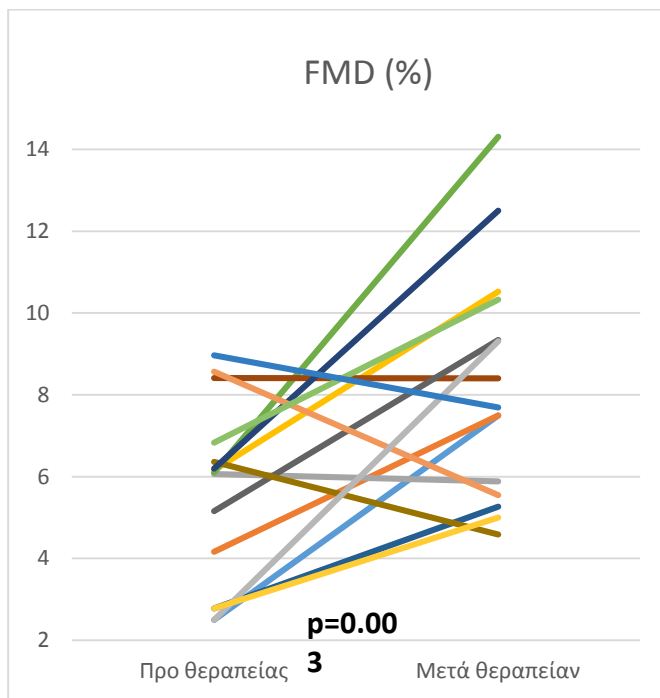
Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα που αφορούν στους υπερηχογραφικούς δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας των ασθενών παρουσιάζονται τόσο στον Πίνακα 5 όσο και στα Διαγράμματα 10α - 10β έως 15α - 5β.



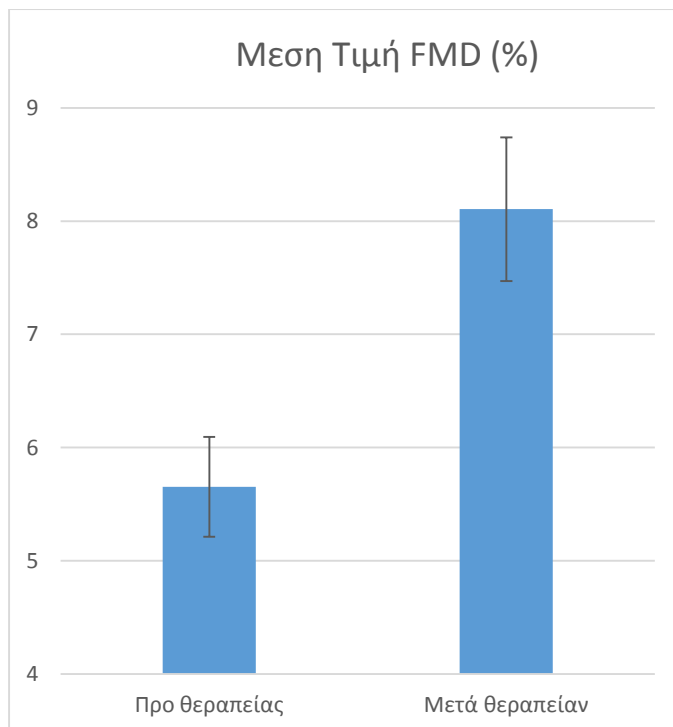
**Πίνακας 5.** Συγκριτικά αποτελέσματα υπερηχογραφικών δεικτών της ενδοθηλιακής λειτουργίας πριν και μετά τη χορήγηση εξαμήνης ορμονικής θεραπείας.

Μέση τιμή ± Τυπική απόκλιση ή Διάμεσος (Ενδοτεταρτημοριακό εύρος)	Προ Θεραπείας	Μετά Θεραπείαν	p-value
<b>FMD (%)</b>	5.40 ± 1.82	8.15 ± 2.76	<b>0.003</b>
<b>Πάχος Έσω – Μέσου Χιτώνα</b>			
Κοινή Καρωτίδα (cm)	0.45 (0.40-0.52)	0.45 (0.40-0.53)	NS
<b>Καρωτιδικός Βολβός (cm)</b>	0.65 (0.55-0.74)	0.60 (0.42-0.69)	<b>0.018</b>
Έσω Καρωτίδα (cm)	0.45 (0.40-0.62)	0.45 (0.41-0.50)	NS
Συνδ/σμένο IMT Καρωτίδας (cm)	0.53 (0.45-0.61)	0.50 (0.46-0.53)	NS
Μηριαία Αρτηρία (cm)	0.57 (0.51-0.61)	0.60 (0.50-0.75)	NS

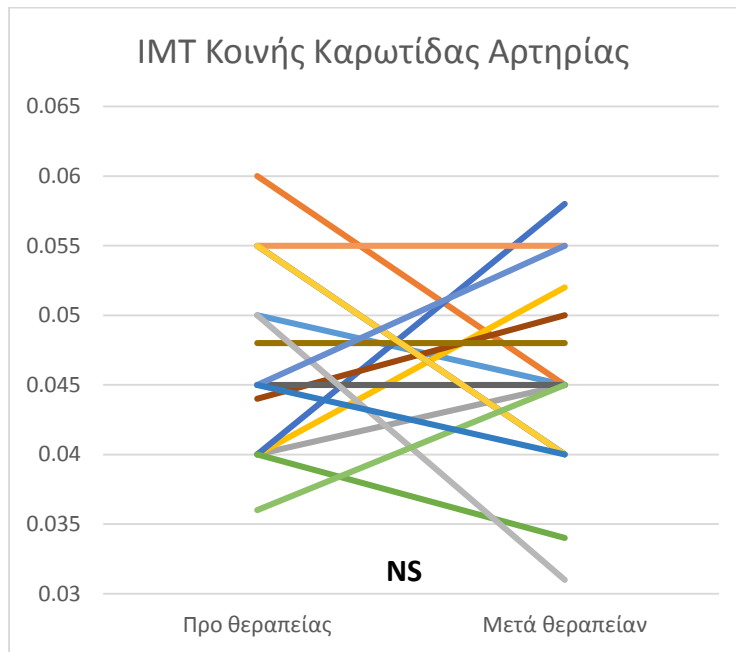
**Διάγραμμα 10α.** Εξαρτώμενη από την ροή αγγειοδιαστολή (**FMD**) πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



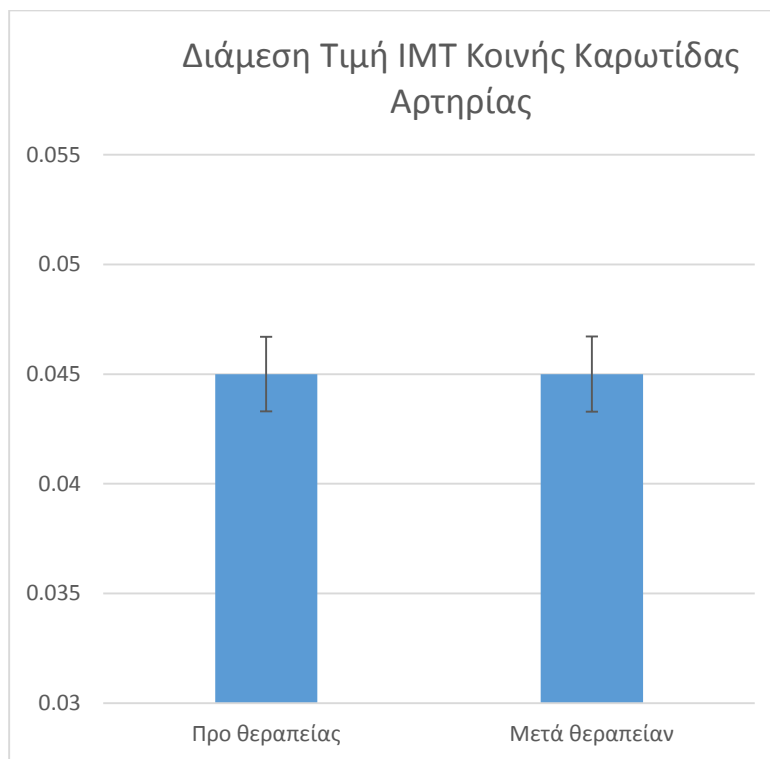
**Διάγραμμα 10β.** Μέση τιμή της εξαρτώμενης από την ροή αγγειοδιαστολής (**FMD**) πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



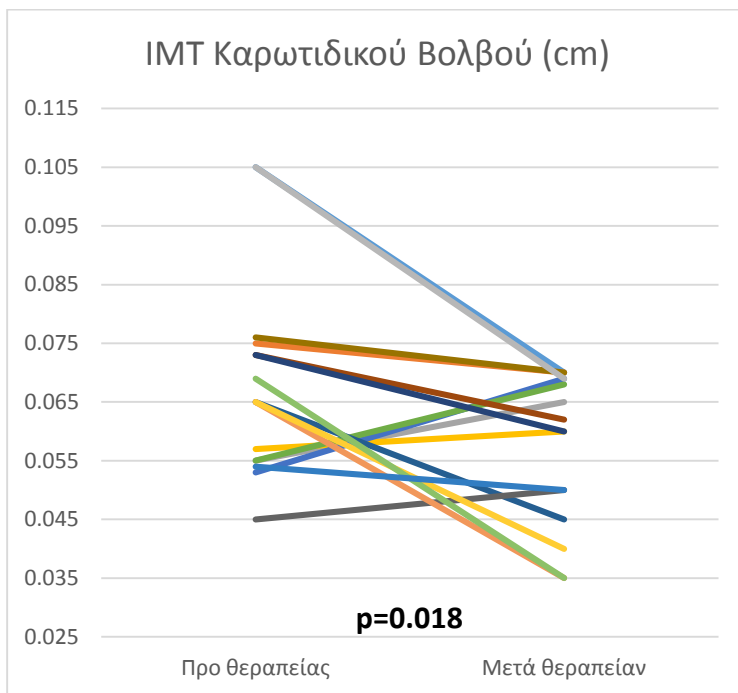
**Διάγραμμα 11α.** Πάχος Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) της **Κοινής Καρωτίδας** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



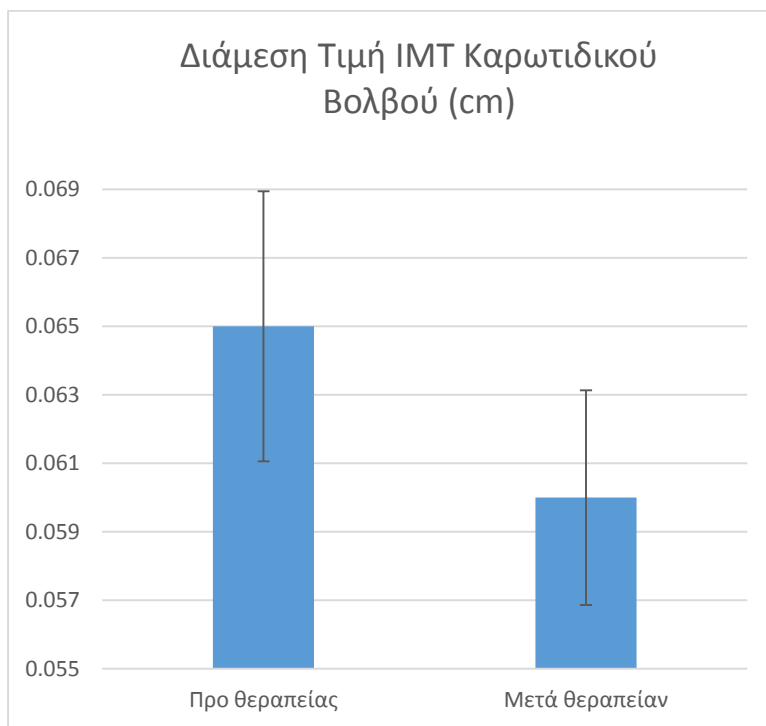
**Διάγραμμα 10β.** Διάμεση τιμή του Πάχους Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) της **Κοινής Καρωτίδας** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



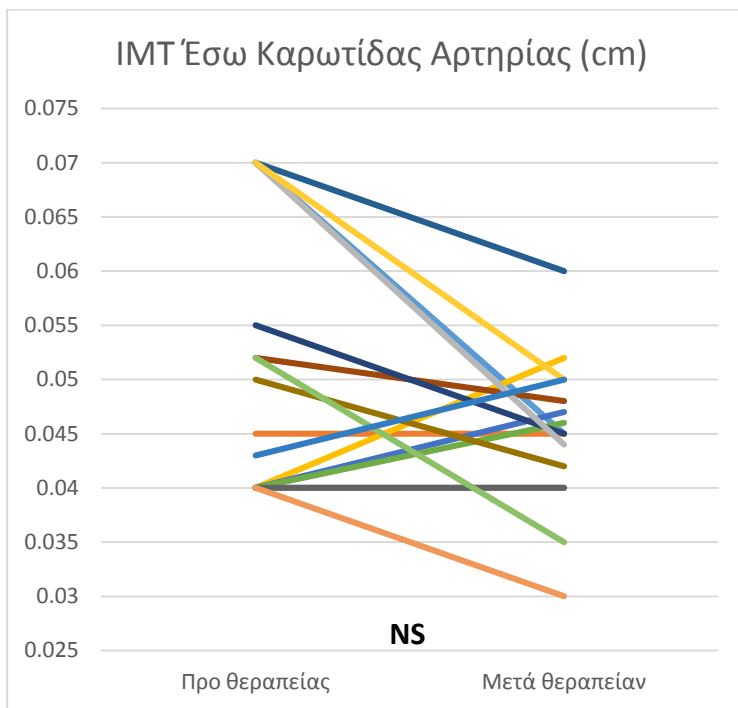
**Διάγραμμα 12α.** Πάχος Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) του **Καρωτιδικού Βολβού** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



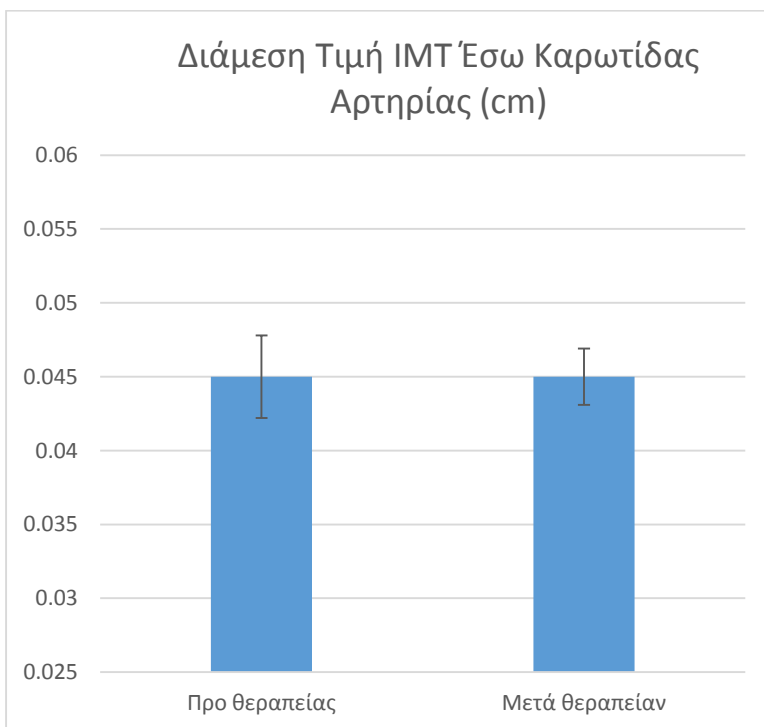
**Διάγραμμα 12β.** Διάμεση τιμή του Πάχους Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) του **Καρωτιδικού Βολβού** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



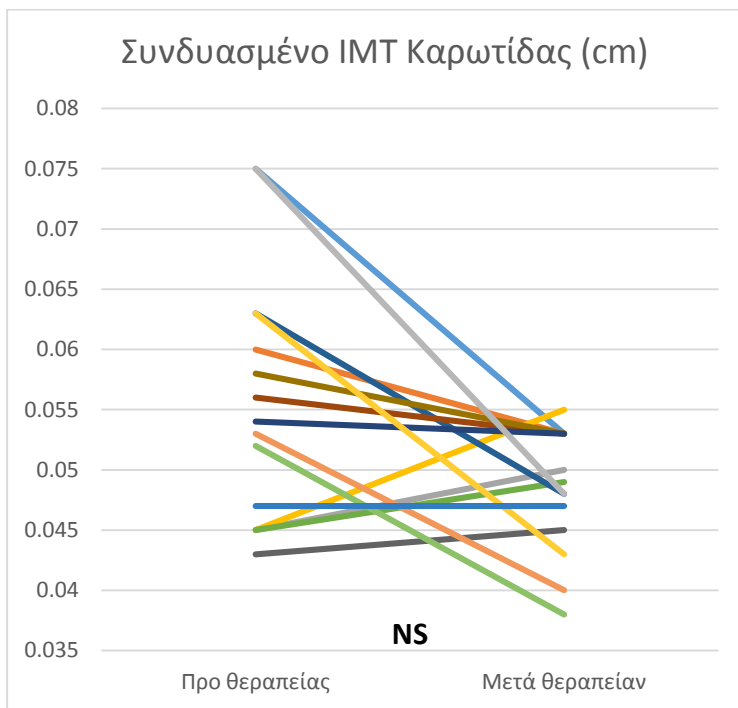
**Διάγραμμα 13α.** Πάχος Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) της Έσω Καρωτίδας πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



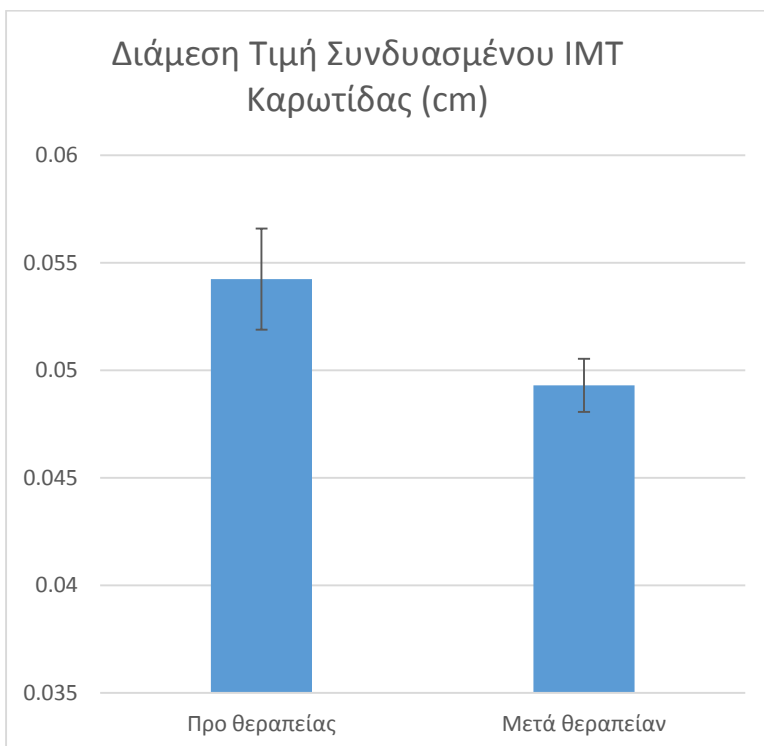
**Διάγραμμα 13β.** Διάμεση τιμή του Πάχους Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) της Έσω Καρωτίδας πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



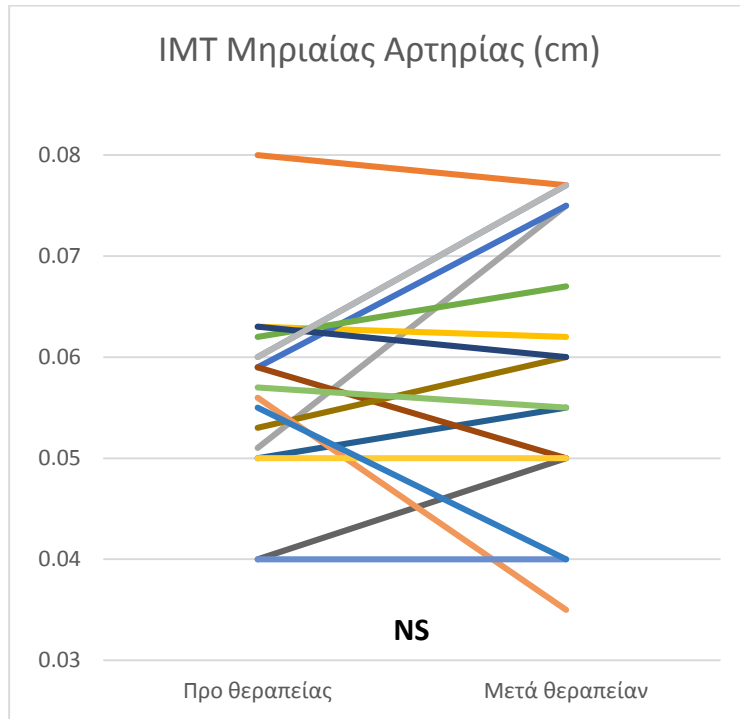
**Διάγραμμα 14α. Συνδυασμένο Πάχος Έσω – Μέσου Χιτώνα (IMT) της Καρωτίδας** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



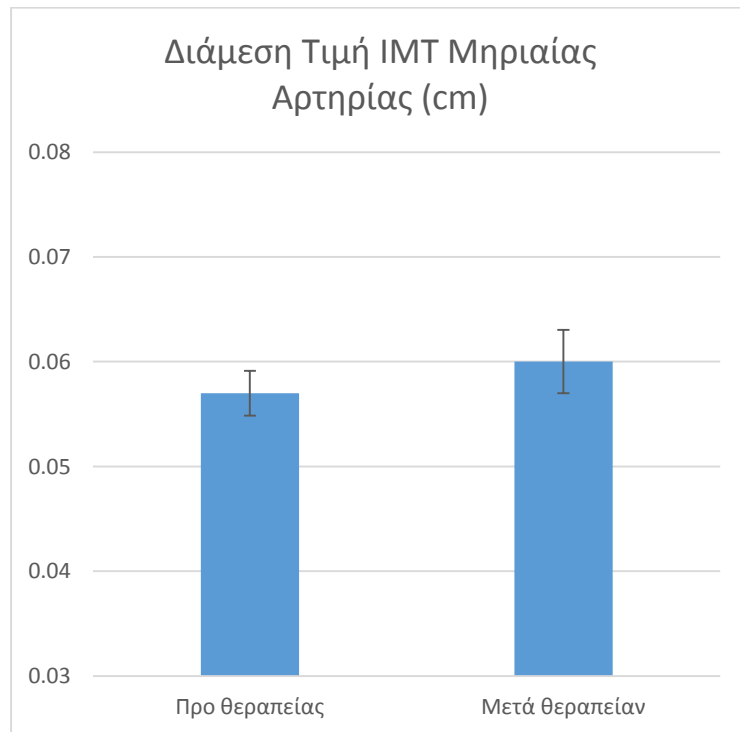
**Διάγραμμα 14β. Διάμεση τιμή του Συνδυασμένου Πάχους Έσω – Μέσου Χιτώνα (IMT) της Καρωτίδας** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



**Διάγραμμα 15α.** Πάχος Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) της **Μηριαίας Αρτηρίας** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ (κάθε γραμμή αναπαριστά μία ασθενή)



**Διάγραμμα 15β.** Διάμεση τιμή του Πάχους Έσω – Μέσου Χιτώνα (**IMT**) της **Μηριαίας Αρτηρίας** πριν και μετά τη χορήγηση ΘΟΥ



## Συνοπτική αξιολόγηση του θεραπευτικού σχήματος

Συνοπτικά, παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ και του συνολικού αθηρωματικού δυναμικού όπως αυτό εκφράζεται από τον τροποποιημένο αθηρωματικό δείκτη (AIP) ο οποίος αποτελεί τον πληρέστερο, ως προς την κλινική εικόνα, δείκτη εκτίμησης της αθηρωμάτωσης.

Τόσο ο πρώιμος δείκτης δυσλειτουργίας της ενδοθηλιογενούς προσκολλησιμότητας (E-Selectin) όσο και ο όψιμος δείκτης μη αναστρέψιμης δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου (απώλεια συνεκτικότητας) (VE-Cadherin), βελτιώθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Αντίθετα, η ενδοθηλιογενής αιμόσταση (που αξιολογήθηκε μέσω των επιπέδων του vWF και της Thrombomodulin) δεν επηρεάστηκε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από την θεραπευτική αγωγή.

Τέλος, αμφότεροι οι υπερηχογραφικοί δείκτες που συμπεριέλαβαν την FMD (σφυγμική διασταλτικότητα / διατασιμότητα – ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή) όσο και το IMT (πάχος έσω-μέσου χιτώνα βολβού καρωτίδας) παρουσίασαν στατιστικά σημαντική βελτίωση μετά από την χορήγηση της θεραπευτικής αγωγής.

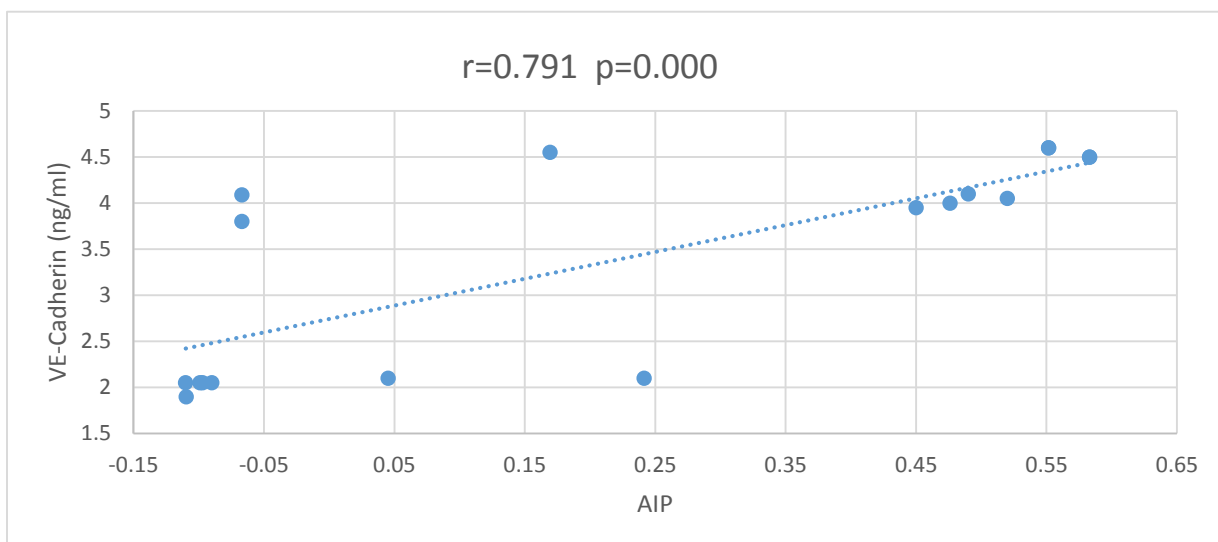


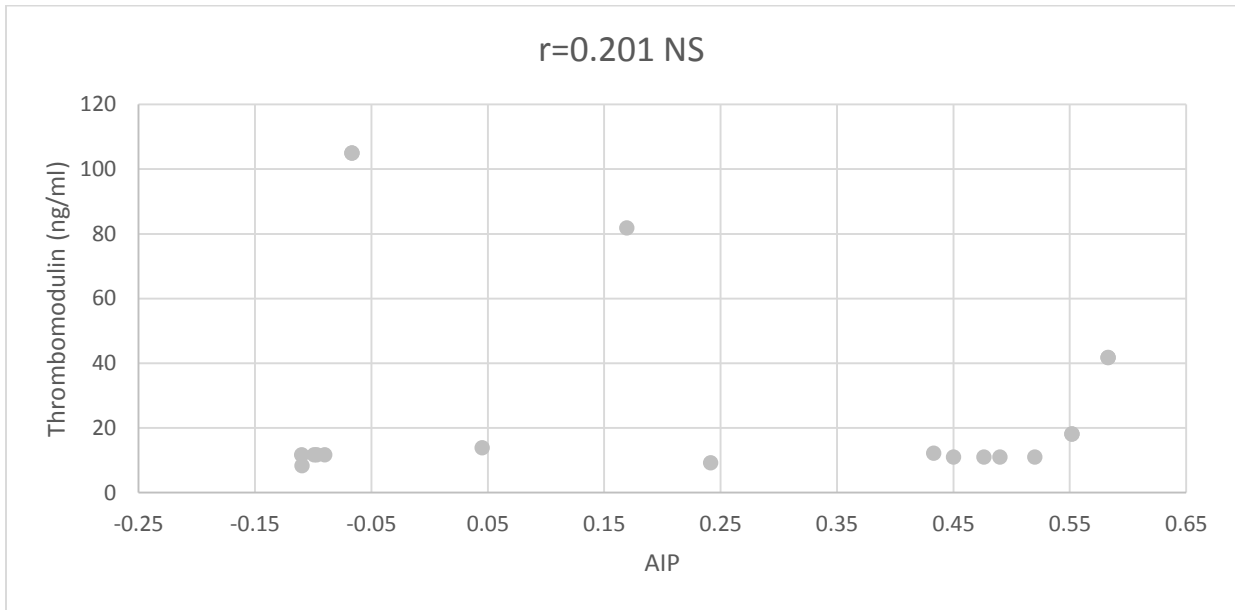
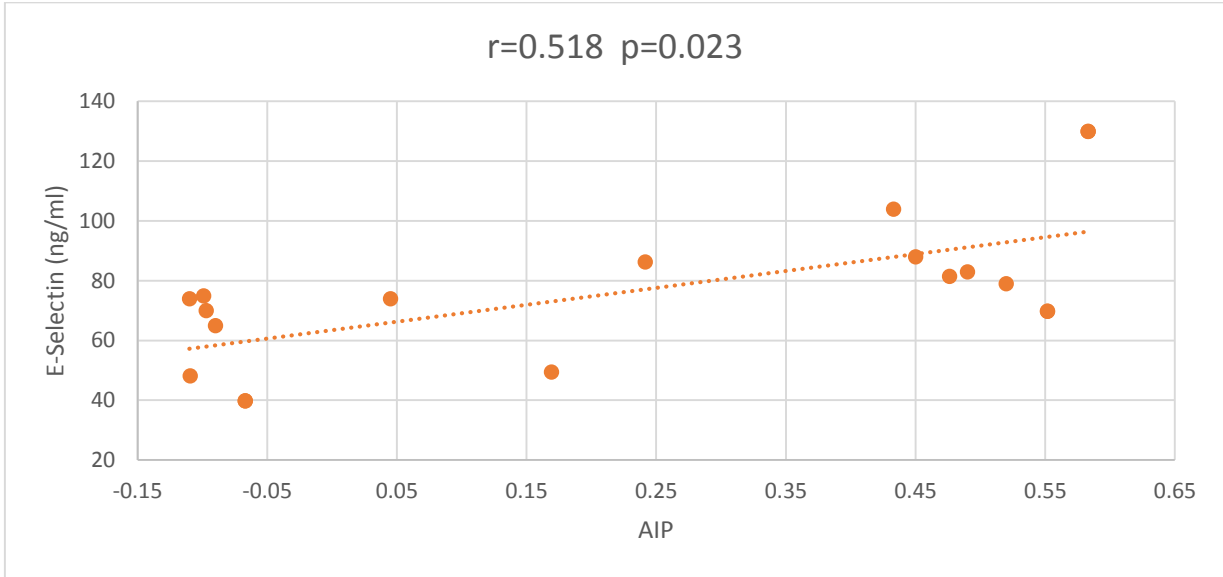
## Διερεύνηση Γραμμικών Συσχετίσεων

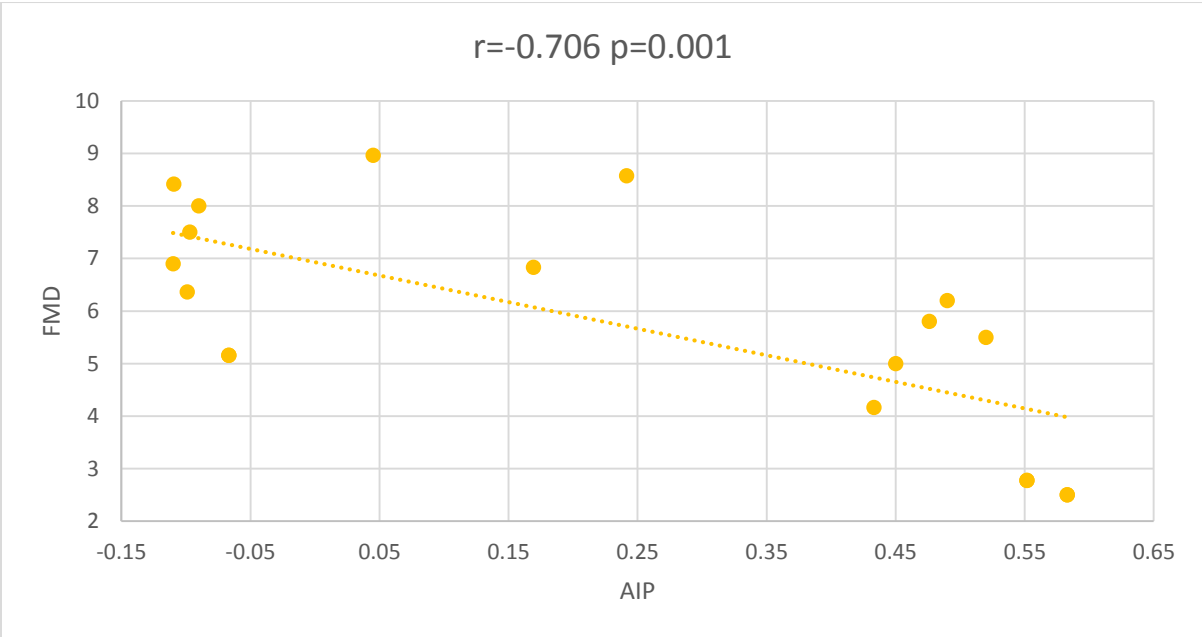
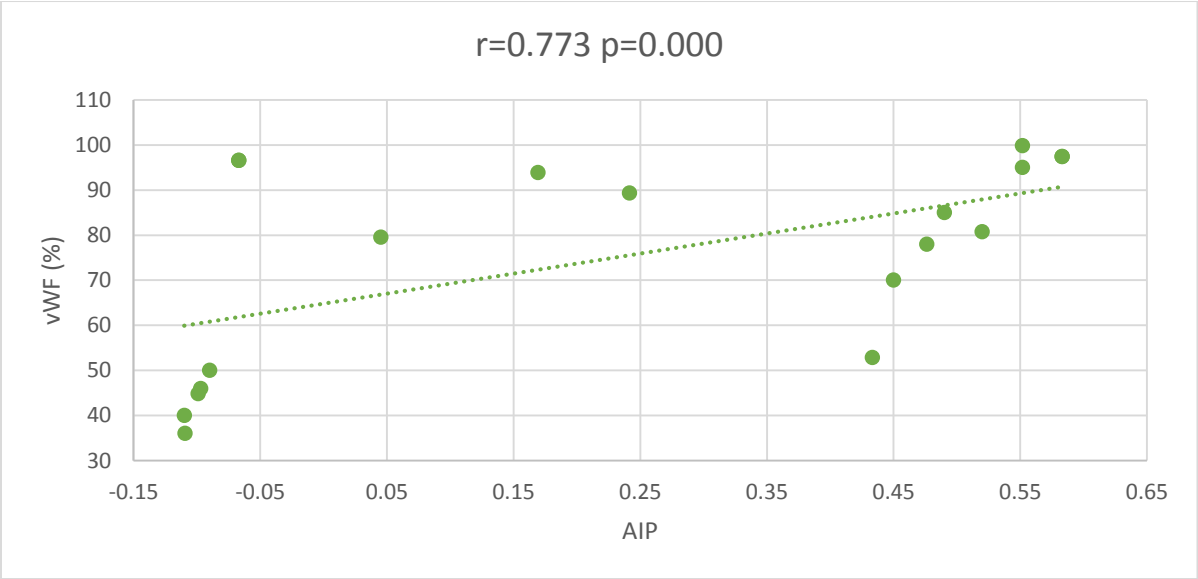
### AIP Προ Θεραπείας

Ο τροποποιημένος αθηρωματικός δείκτης (**AIP**) συσχετίζεται θετικά με την πρώιμη ενδοθηλιογενή συνεκτικότητα (E-Selectin) και την όψιμη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (VE-Cadherin), όπως επίσης και με τον ένα εκ των δύο δεικτών της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αιμόστασης, και συγκεκριμένα με τον vWf. Παράλληλα ο AIP ως αναμενόταν σχετίζεται αρνητικά με την FMD.

Συσχέτιση AIP με:	Correlation Coefficient	p
VE-Cadherin	<b>0.791</b>	<b>0.000</b>
E-Selectin	<b>0.518</b>	<b>0.023</b>
Thrombomodulin	0.201	NS
vWf	<b>0.773</b>	<b>0.000</b>
FMD	<b>-0.706</b>	<b>0.001</b>



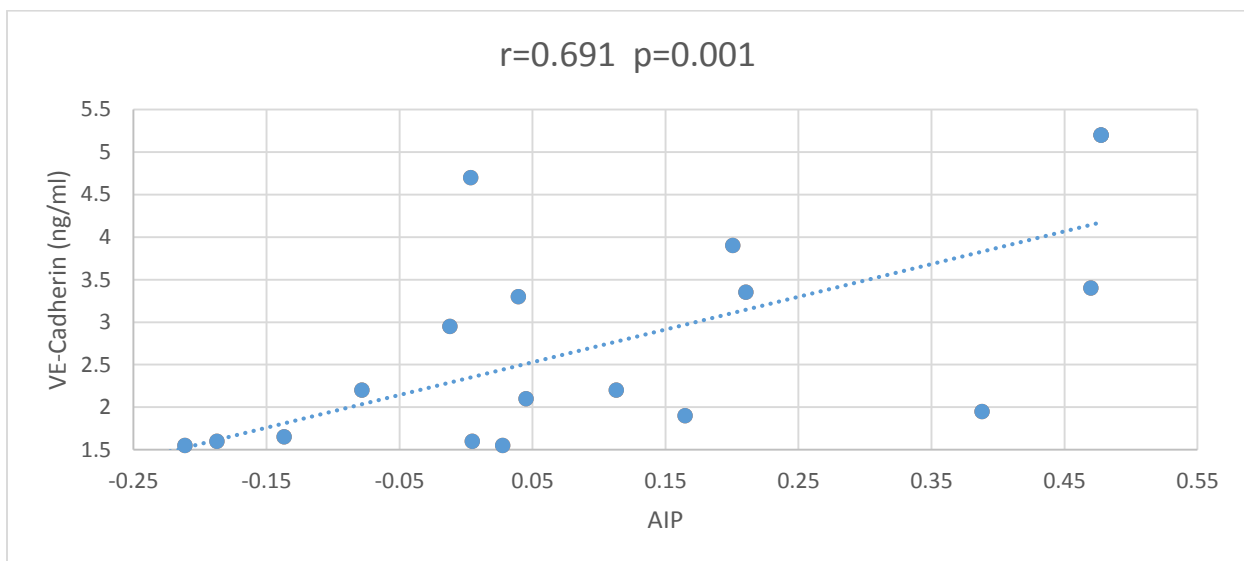


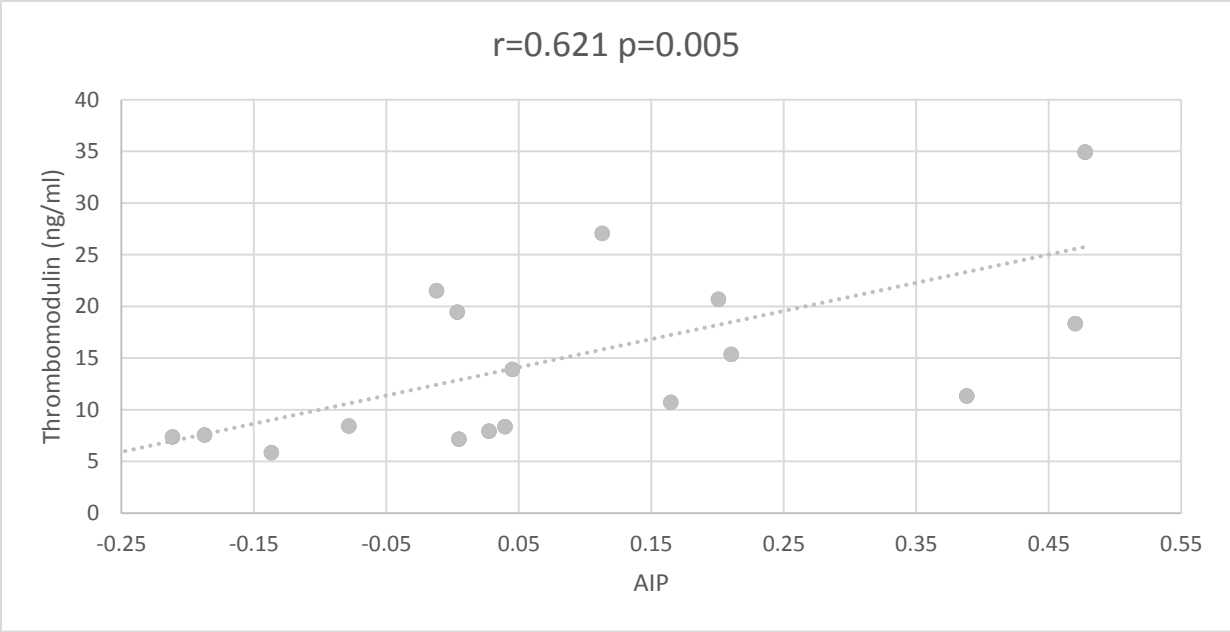
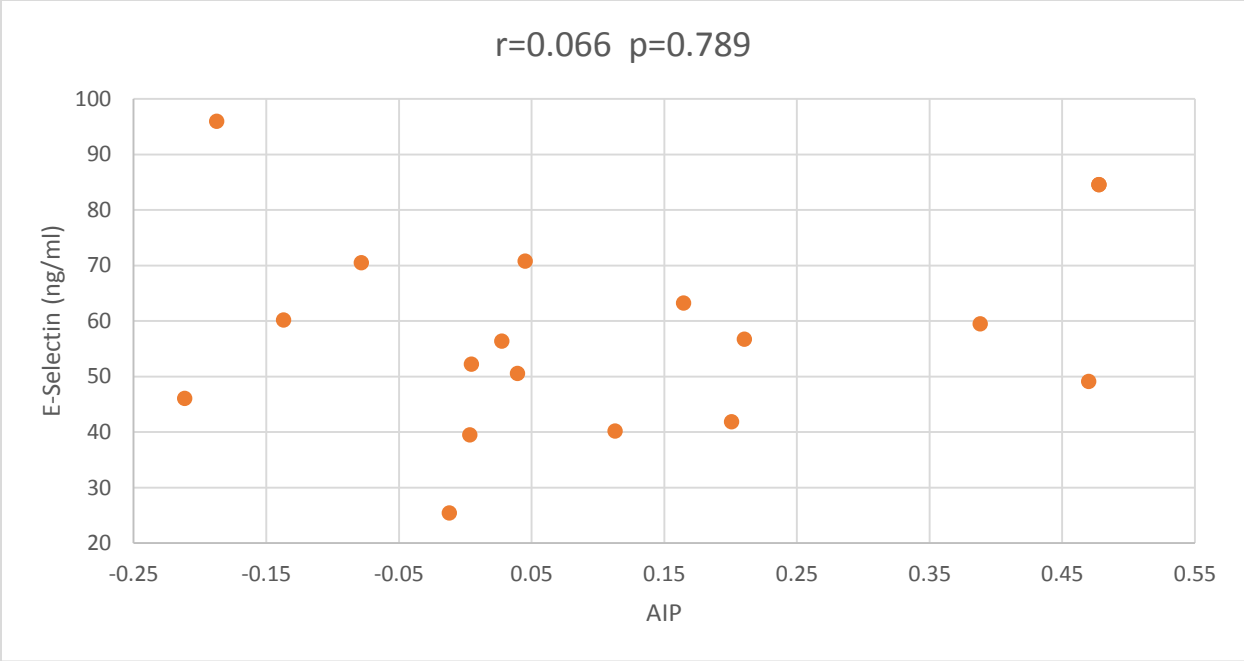


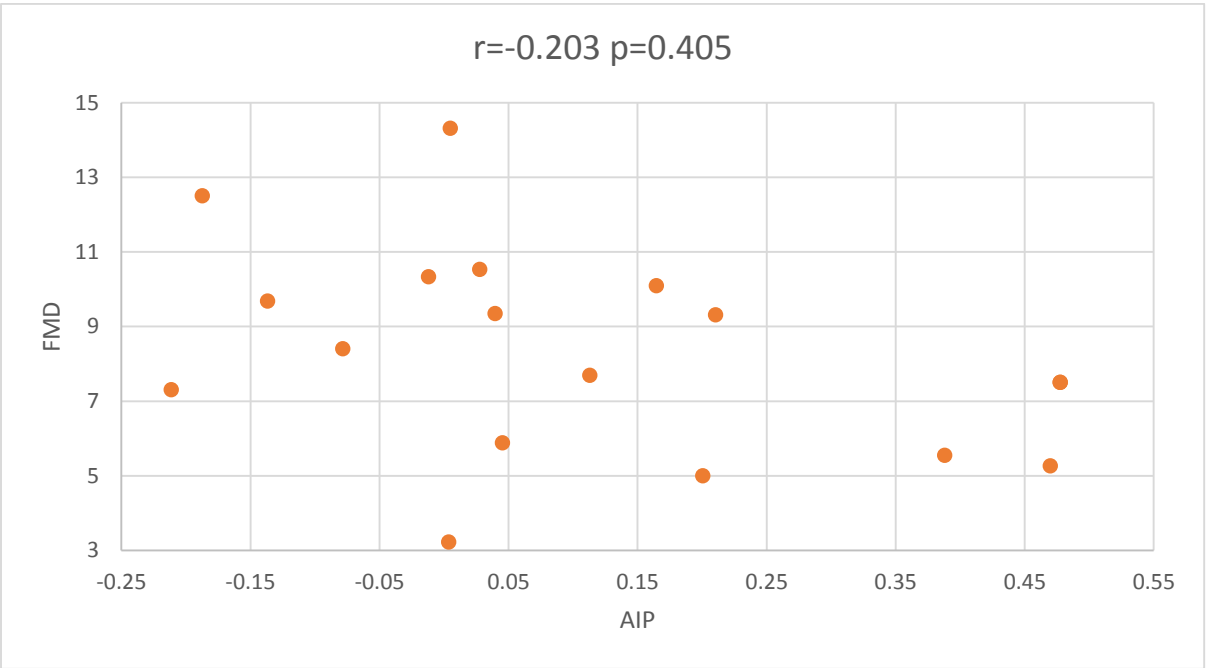
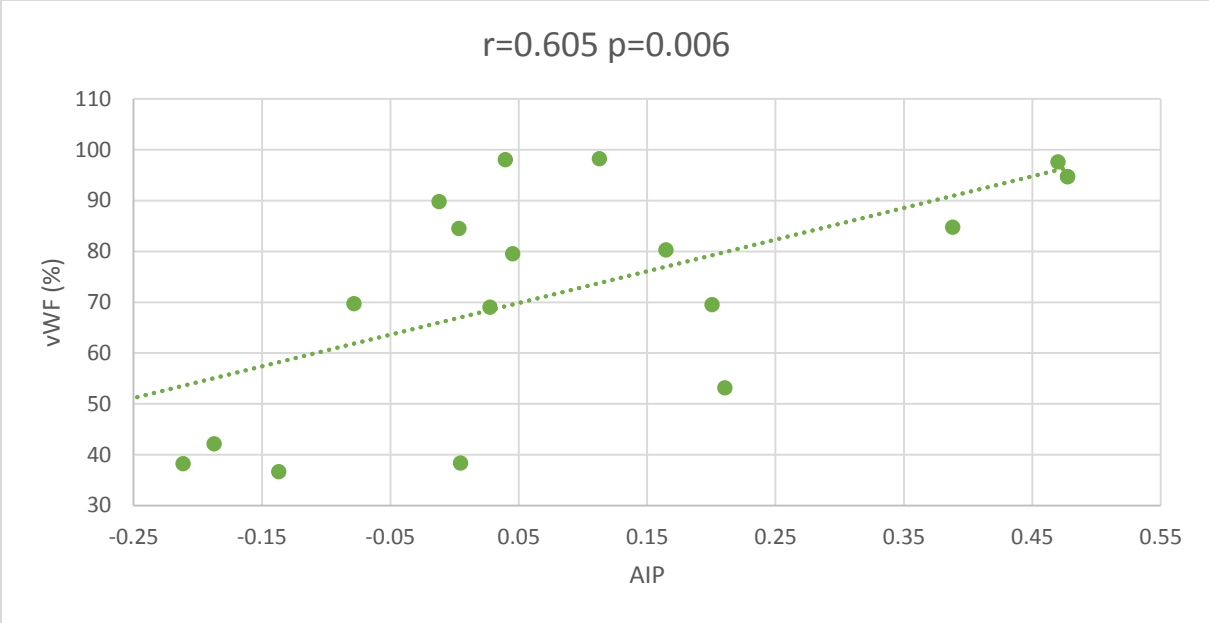
## AIP Μετά τη θεραπεία

Ο τροποποιημένος αθηρωματικός δείκτης (**AIP**) διατηρεί την θετική συσχέτιση με την όψιμη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (VE-Cadherin) και την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αιμόσταση, μια συσχέτιση την οποία ενισχύει μετά την θεραπεία, καθώς η θετική συσχέτιση επεκτείνεται εκτός του vWf και στον δεύτερο παράγοντα ενδοθηλιοεξαρτώμενης αιμόστασης, την Thrombomodulin.

Συσχέτιση AIP με:	Correlation Coefficient	p
VE-Cadherin	<b>0,691</b>	<b>0,001</b>
E-Selectin	0,066	0,789
Thrombomodulin	<b>0,621</b>	<b>0,005</b>
vWf	<b>0,605</b>	<b>0,006</b>
FMD	<b>-0,203</b>	0,405



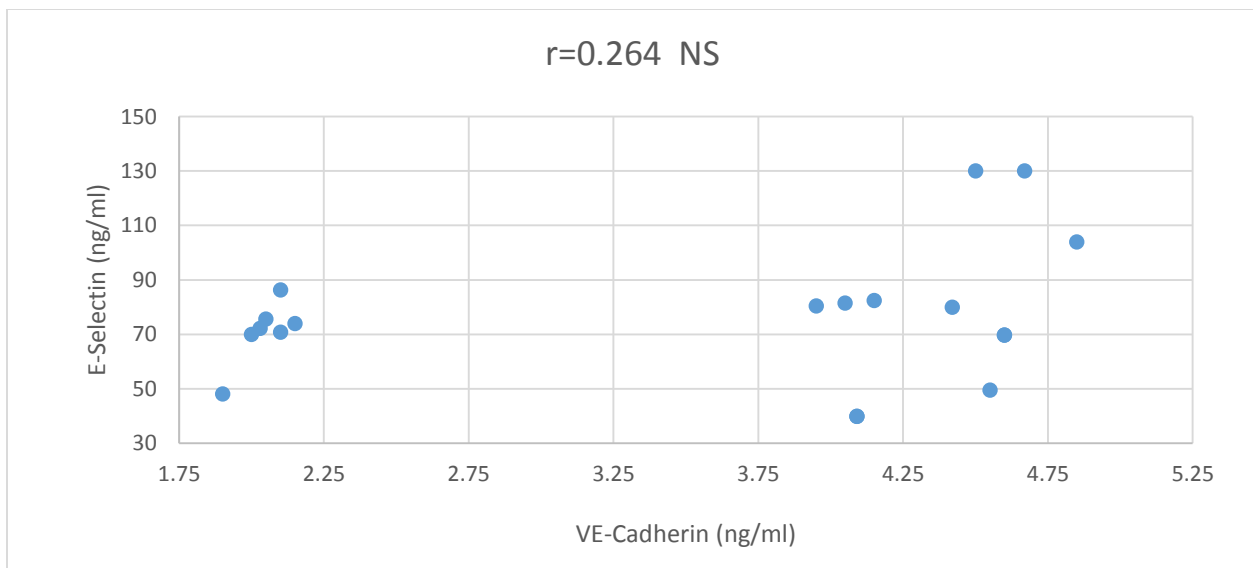


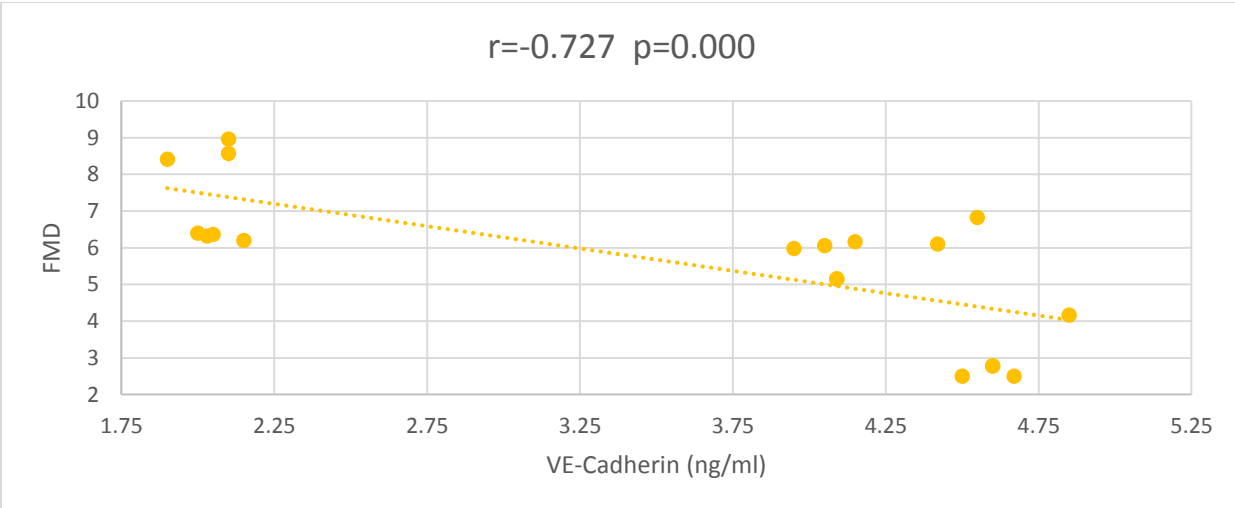
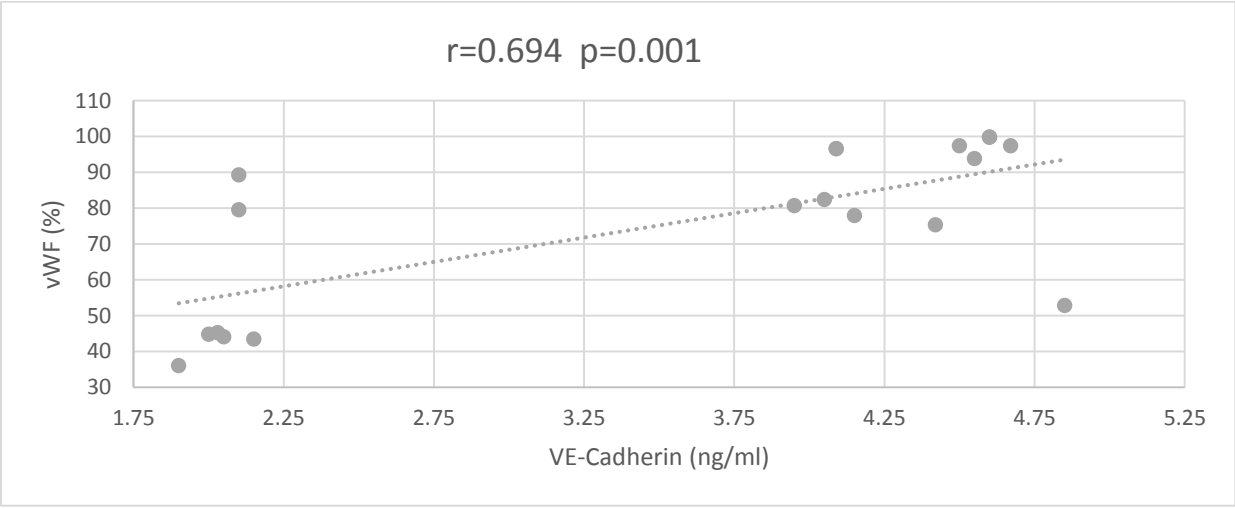
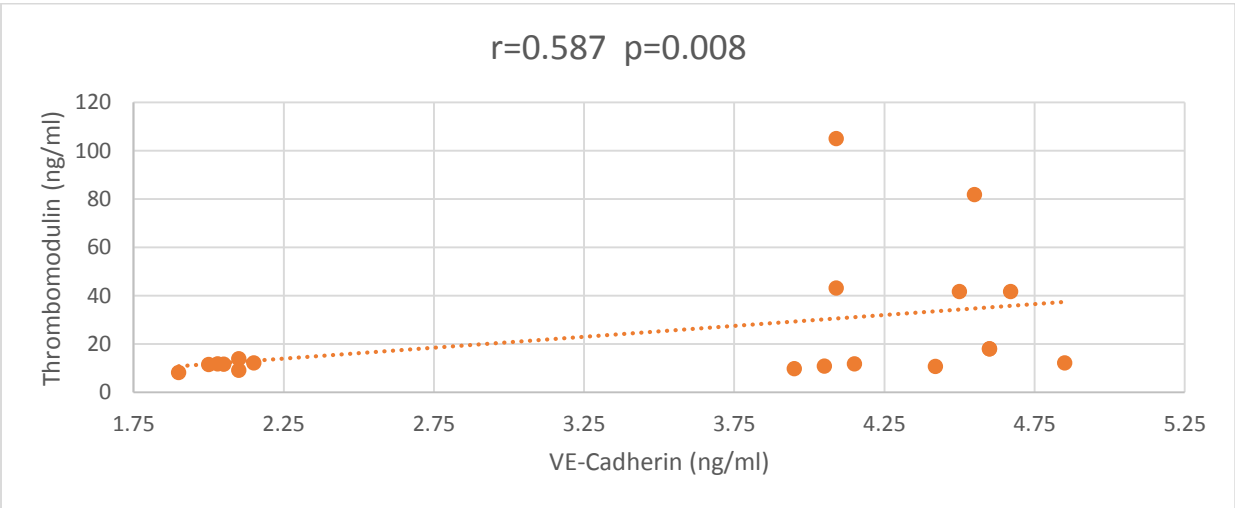


## VE-Cadherin προ θεραπείας

Η όψιμη ενδοθηλιογενής συνεκτικότητα-συνοχή (**VE-Cadherin**) σχετίζεται θετικά ως αναμενόμεν (προαναφέρθηκε), με τον τροποποιημένο αθηρωματικό δείκτη (AIP), με την ενδοθηλιογενή αιμόσταση (παράγοντες vWF & Thrombomodulin) αλλά και αρνητικά με την FMD και όλα τα παραπάνω προ θεραπείας.

Συσχέτιση VE-Cadherin με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.791</b>	<b>0.000</b>
E-Selectin	0.264	NS
Thrombomodulin	<b>0.587</b>	<b>0.008</b>
vWf	<b>0.694</b>	<b>0.001</b>
FMD	<b>-0.727</b>	<b>0.000</b>



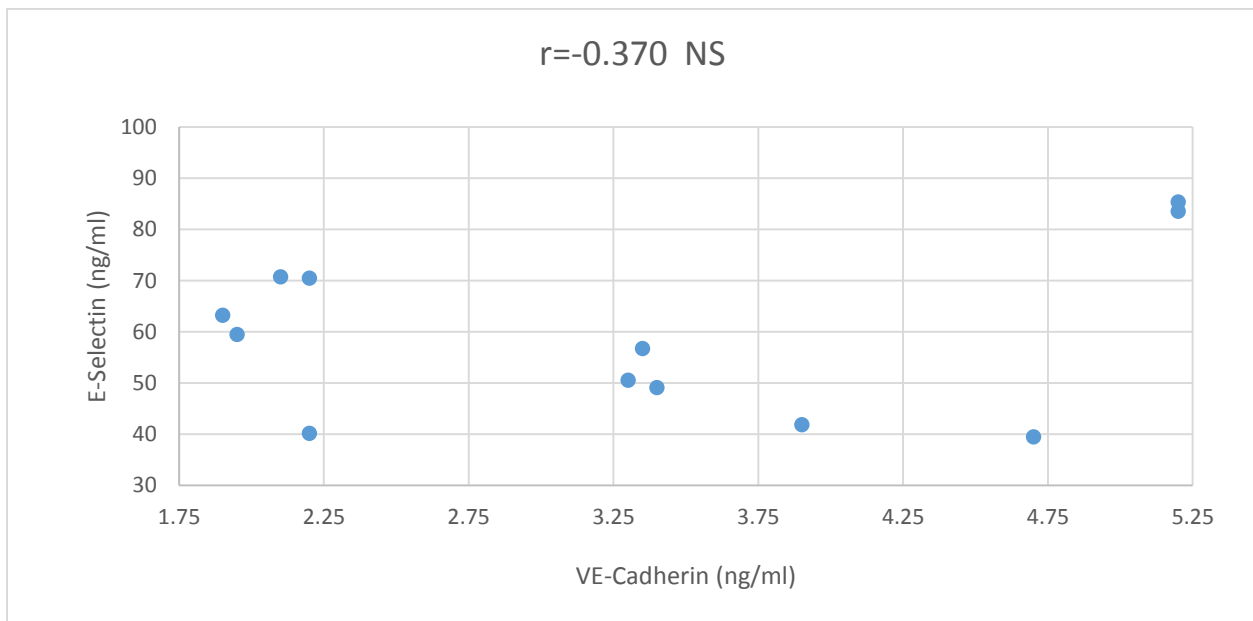


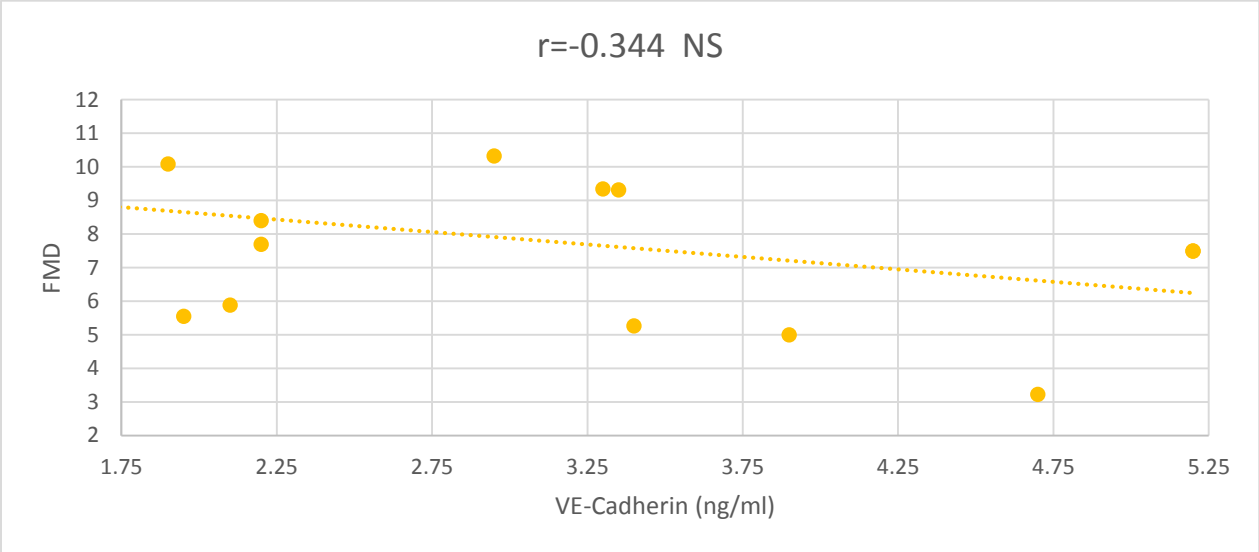
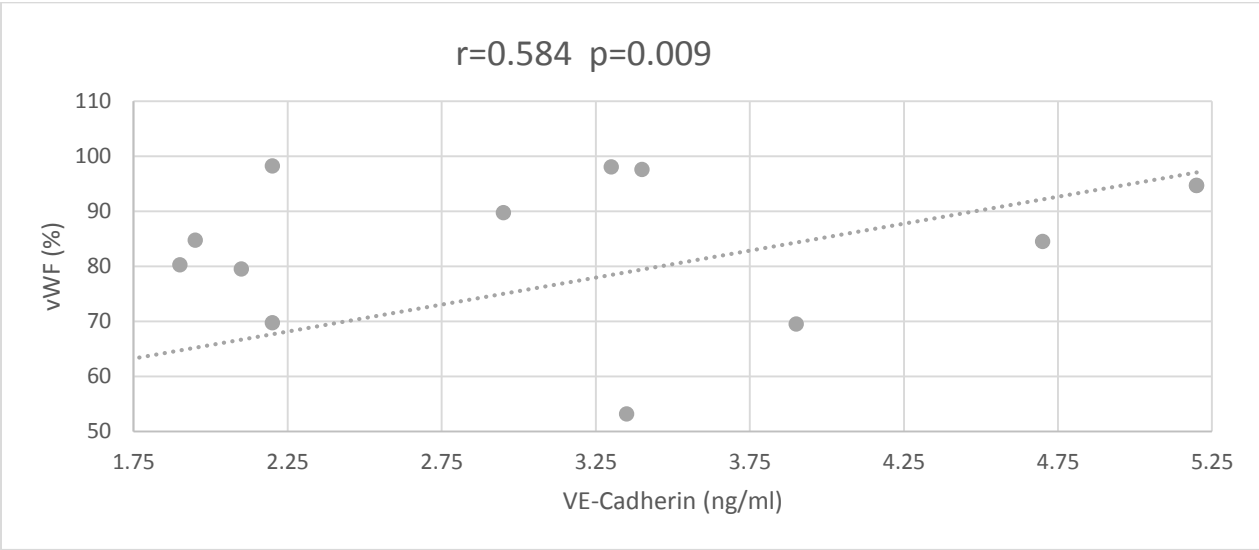
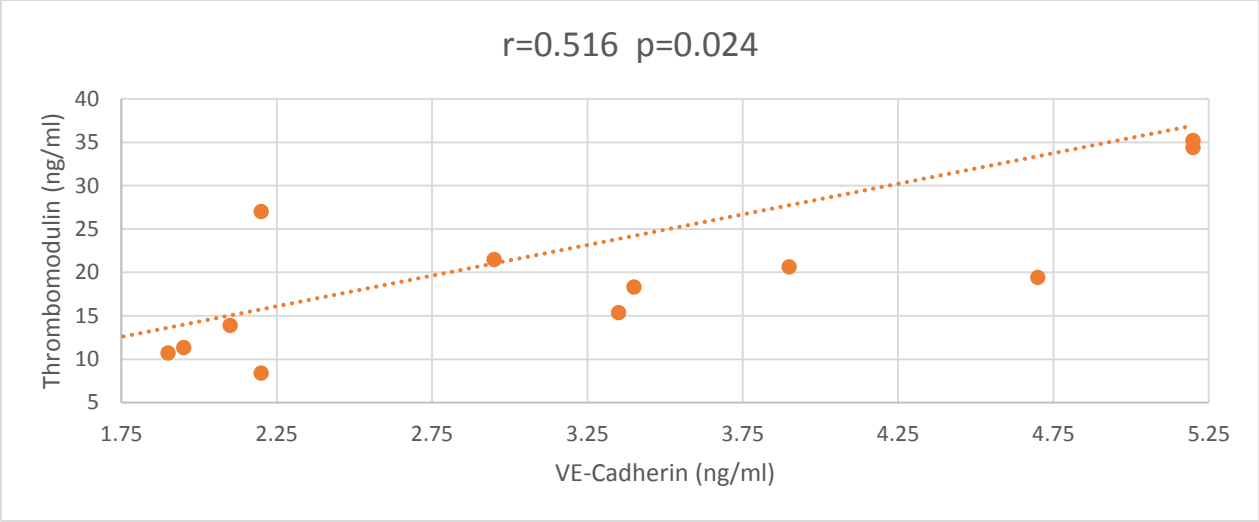


## VE-Cadherin μετά θεραπεία

Διατηρούνται όλες οι θετικές συσχετίσεις της **VE-Cadherin** που παρατηρήθηκαν και προ θεραπείας (AIP, vWF & Thrombomodulin). Αντίθετα μετά την θεραπεία αίρεται η αρνητική συσχέτιση της VE-Cadherin με την FMD.

Συσχέτιση VE-Cadherin με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.691</b>	<b>0.001</b>
E-Selectin	-0.370	NS
Thrombomodulin	<b>0.516</b>	<b>0.024</b>
vWf	<b>0.584</b>	<b>0.009</b>
FMD	-0.344	NS

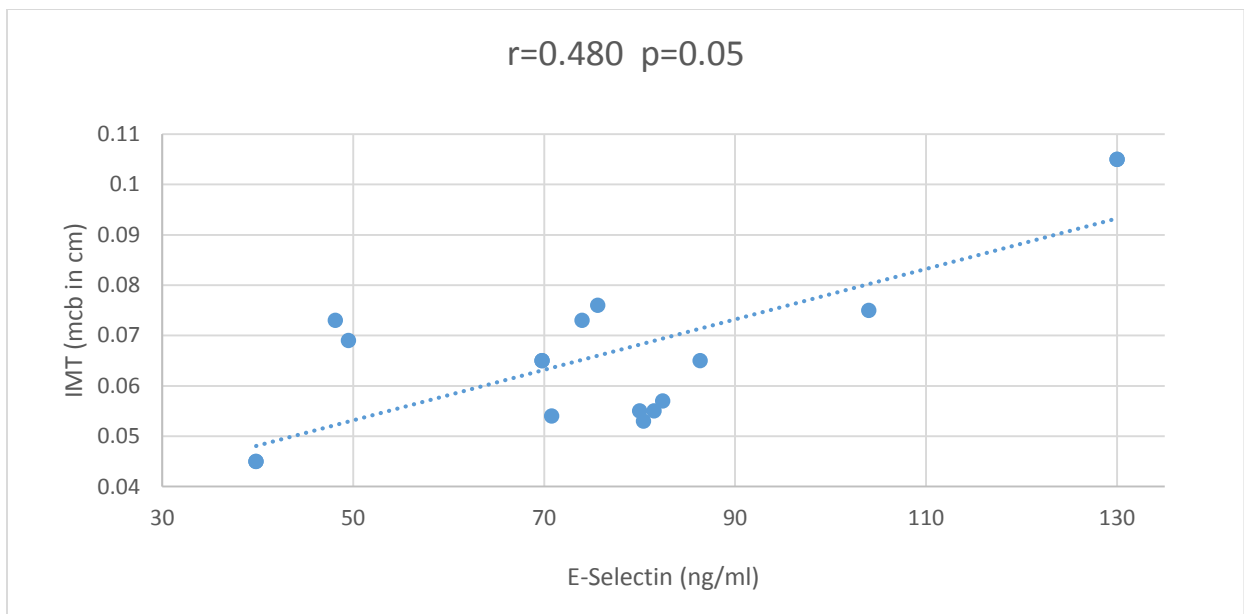




## E-Selectin προ θεραπείας

Η πρώιμη ενδοθηλιογενής προσκολλητικότητα (**E-Selectin**) σχετίζεται θετικά τόσο με τον τροποποιημένο αθηρωματικό δείκτη (AIP) (όπως προαναφέρθηκε) όσο και με το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (IMT) της καρωτίδας.

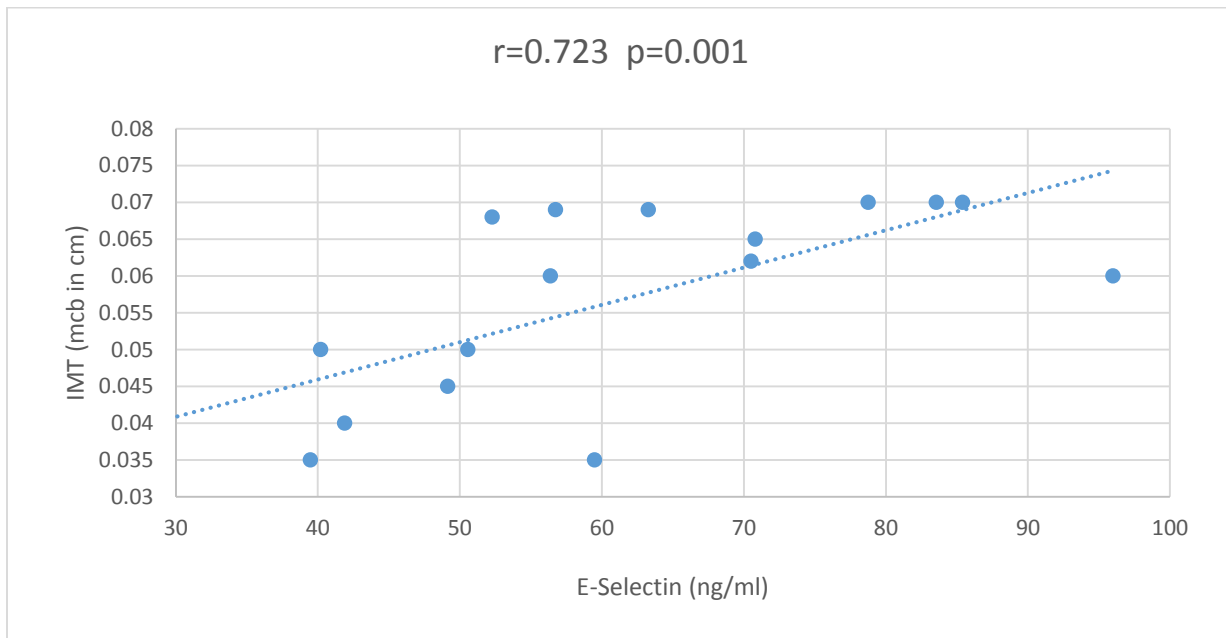
Συσχέτιση E-Selectin με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.518</b>	<b>0.023</b>
IMT (mcb)	<b>0.480</b>	<b>0.05</b>



## E-Selectin μετά θεραπείας

Χάνεται η θετική συσχέτιση της πρώιμης ενδοθηλιογενούς προσκολλητικότητας (**E-Selectin**) με τον βελτιωμένο ως προς τα αποτελέσματα, τροποποιημένο αθηρωματικό δείκτη (AIP) όπως προαναφέρεται, αλλά παραμένει η θετική συσχέτιση της E-Selectin με το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα IMT.

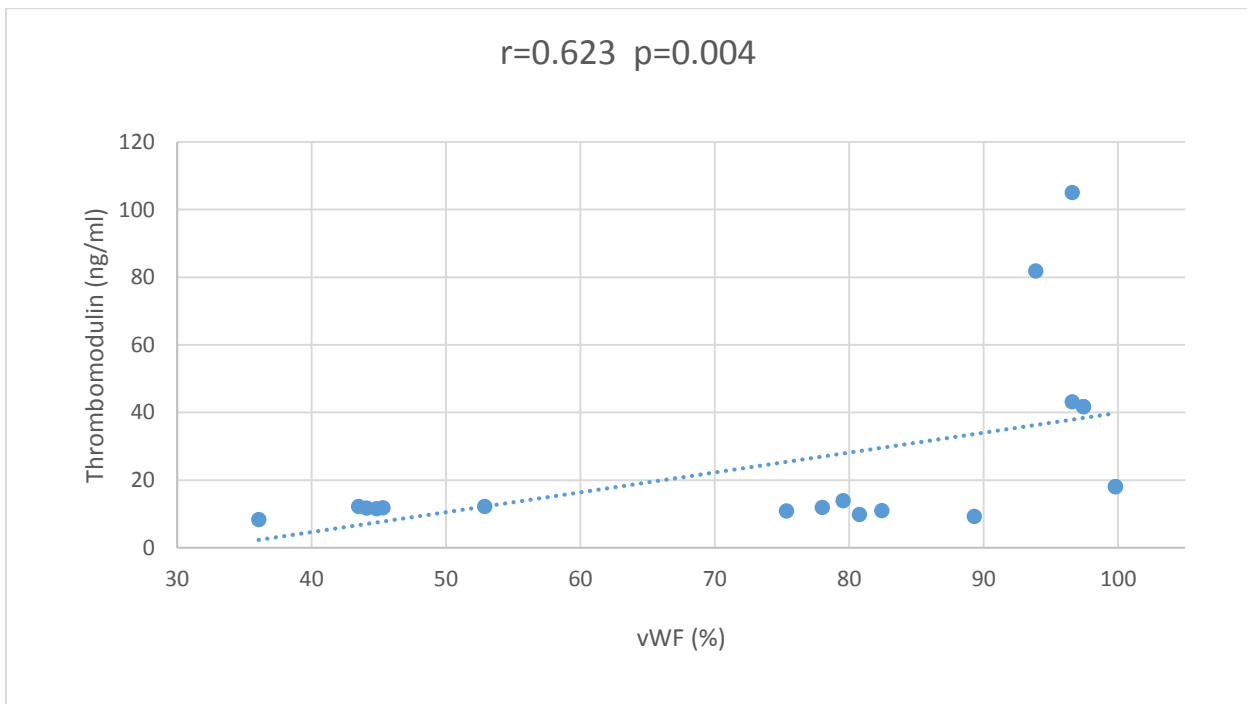
Συσχέτιση E-Selectin με:	Correlation Coefficient	p
AIP	0.066	NS
IMT (mcb)	<b>0.723</b>	<b>0.001</b>

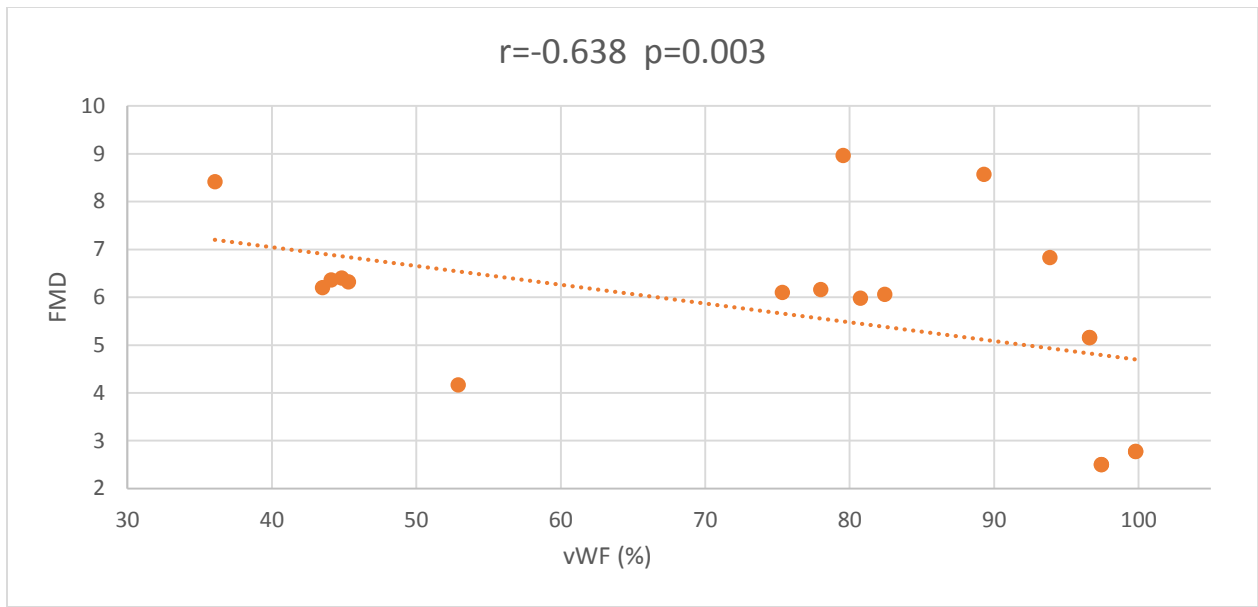


## vWF προ θεραπείας

Η ενδοθηλιογενής αιμοπεταλιοεξαρτημένη αιμόσταση (**vWf**), σχετίζεται αρνητικά με τη σφυγμική διατασιμότητα (ενδοθηλιογενής αγγειακός τόνος) και θετικά με ενδοθηλιογενή αιμοπεταλιοανεξάρτητη αιμόσταση (thrombomodulin) όψιμη δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου (VE-Cadherin) και αθηρωματικό δείκτη (AIP).

Συσχέτιση vWF με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.773</b>	<b>0.000</b>
VE-Cadherin	<b>0.694</b>	<b>0.001</b>
Thrombomodulin	<b>0.623</b>	<b>0.004</b>
FMD	<b>-0.638</b>	<b>0.003</b>

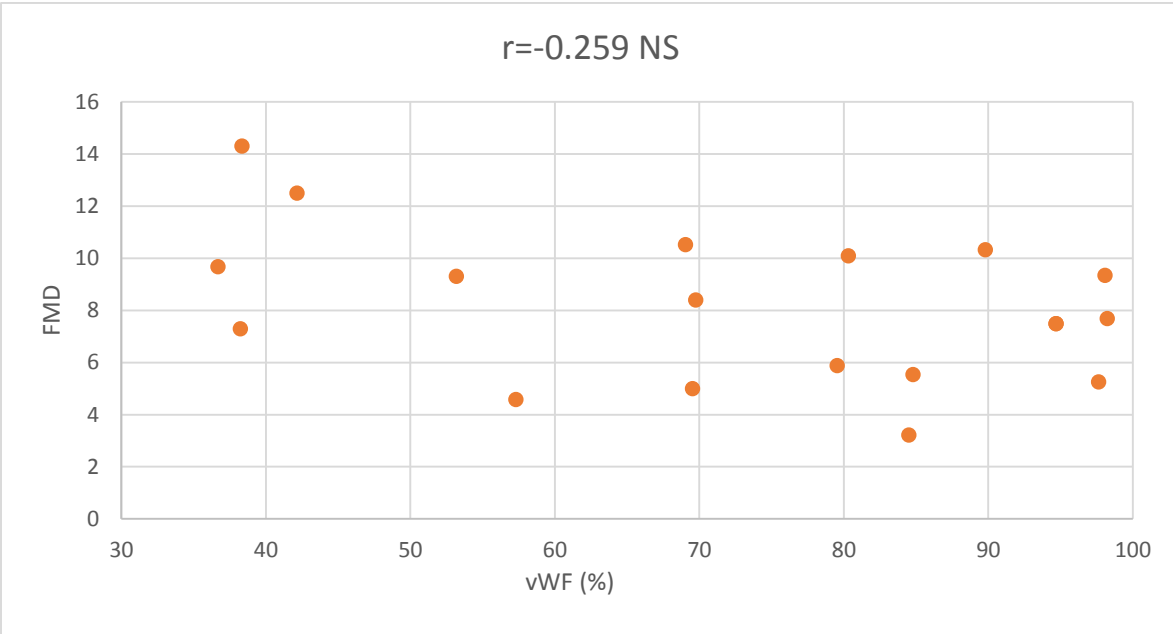
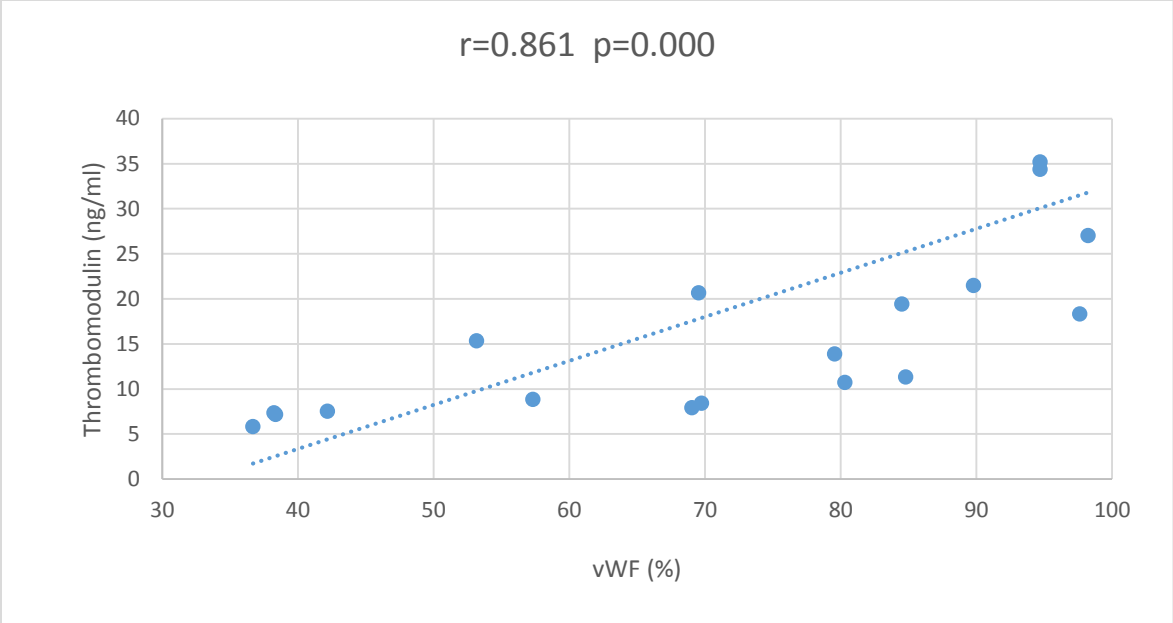




### vWF μετά θεραπεία

Η ενδοθηλιογενής αιμοπεταλιοεξαρτημένη αιμόσταση (**vWf**), σχετίζεται με την ενδοθηλιογενή αιμοπεταλιοανεξάρτητη αιμόσταση (thrombomodulin), την όψιμη δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου (VE-Cadherin) και τον αθηρωματικό δείκτη (AIP).

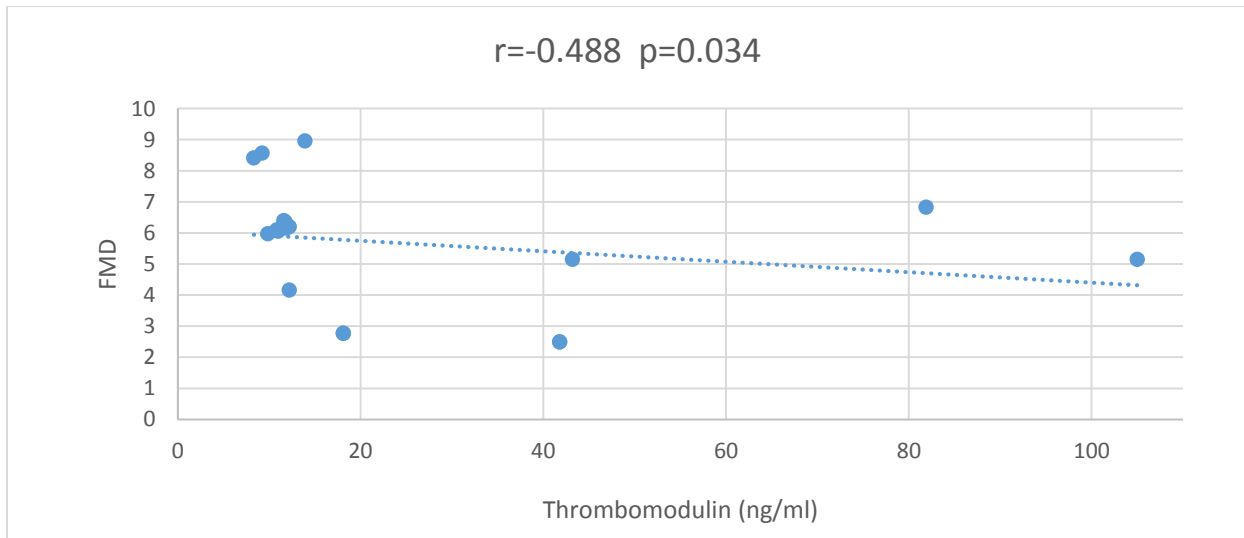
Συσχέτιση vWF με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.605</b>	<b>0.006</b>
VE-Cadherin	<b>0.584</b>	<b>0.009</b>
Thrombomodulin	<b>0.861</b>	<b>0.000</b>
FMD	-0.259	NS



## Thrombomodulin προ θεραπείας

Η ενδοθηλιογενής αιμοπεταλιοανεξάρτητη αιμόσταση (**thrombomodulin**), σχετίζεται αρνητικά με τη σφυγμική διατασιμότητα (ενδοθηλιογενής αγγειακός τόνος) και θετικά με την ενδοθηλιογενή αιμοπεταλιοεξαρτημένη αιμόσταση (vWf) και την όψιμη δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου (VE-Cadherin).

Συσχέτιση Thrombomodulin με:	Correlation Coefficient	p
AIP	0.201	NS
VE-Cadherin	<b>0.587</b>	<b>0.008</b>
vWF	<b>0.623</b>	<b>0.004</b>
FMD	<b>-0.488</b>	<b>0.034</b>

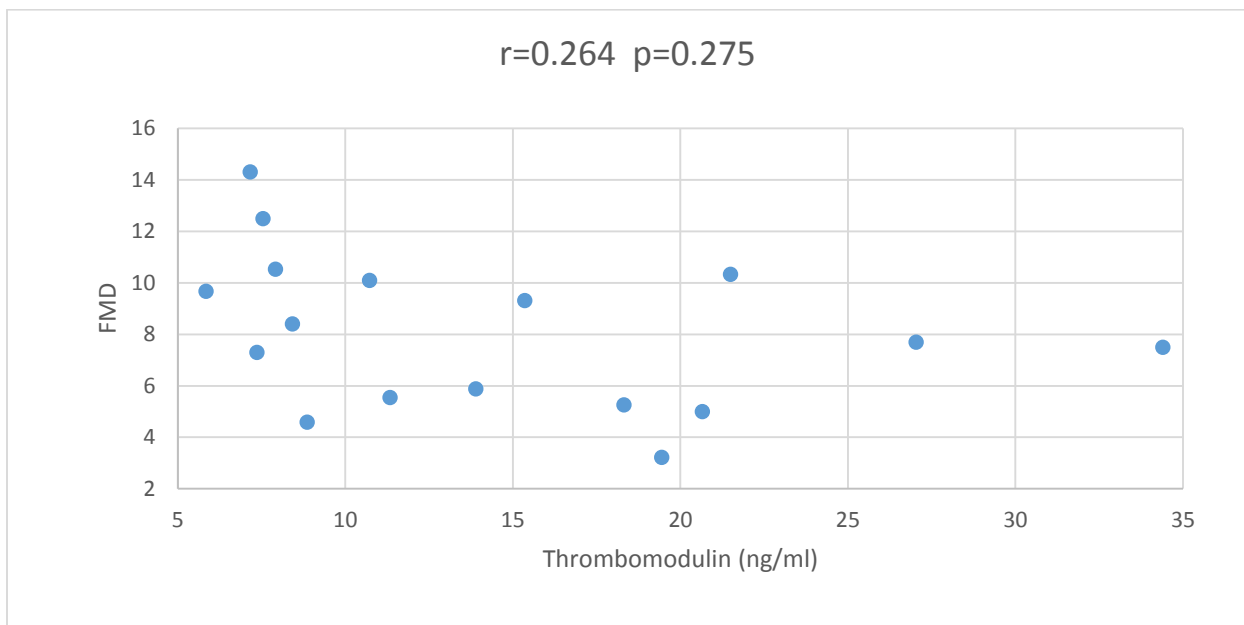




## Thrombomodulin μετά θεραπεία

Η ενδοθηλιογενής αιμοπεταλιοανεξάρτητη αιμόσταση (**thrombomodulin**) σχετίζεται θετικά με την ενδοθηλιογενή αιμοπεταλιοεξαρτημένη αιμόσταση (vWf), την όψιμη δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου (VE-Cadherin) και τον αθηρωματικό δείκτη (AIP).

Συσχέτιση Thrombomodulin με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.621</b>	<b>0.005</b>
VE-Cadherin	<b>0.516</b>	<b>0.024</b>
vWF	<b>0.861</b>	<b>0.000</b>
FMD	-0.067	NS



## FMD προ και μετά θεραπείας

Προ Θεραπείας: Η **FMD** (σφυγμική διατασιμότητα που απηχεί τον ενδοθηλιογενή αγγειακό τόνο) σχετίζεται αρνητικά, ως αναμενόταν με την όψιμη ενδοθηλιογενή συνεκτικότητα-συνοχή (VE-Cadherin), την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αιμόσταση (vWF & Thrombomodulin) και το συνολικό αθηρωματικό δυναμικό (AIP).

Συσχέτιση FMD με:	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>-0.706</b>	<b>0.001</b>
VE-Cadherin	<b>-0.727</b>	<b>0.000</b>
Thrombomodulin	<b>-0.488</b>	<b>0.034</b>
vWF	<b>-0.638</b>	<b>0.003</b>

Μετά Θεραπεία: Η συσχέτιση της **FMD** χάνεται με όλα τα προαναφερθέντα.

Συσχέτιση FMD με:	Correlation Coefficient	p
AIP	-0.203	NS
VE-Cadherin	-0.344	NS
Thrombomodulin	-0.067	NS
vWF	-0.259	NS

## Συσχετίσεις μεταξύ των διαφορών

Η απόλυτη διαφορά των επιπέδων του **AIP** μετά και προ θεραπείας σχετίζεται αρνητικά με την αντίστοιχη απόλυτη διαφορά της FMD, ενώ σχετίζεται θετικά με τις αντίστοιχες απόλυτες διαφορές της VE-Cadherin και του vWF.

Αριθμητική διαφορά AIP	Correlation Coefficient	p
VE-Cadherin	<b>0.752</b>	<b>0.000</b>
vWF	<b>0.606</b>	<b>0.006</b>
FMD	<b>-0.501</b>	<b>0.029</b>

Η απόλυτη διαφορά των επιπέδων της **VE-Cadherin** μετά και προ θεραπείας σχετίζεται θετικά με την αντίστοιχη απόλυτη διαφορά του AIP, και αρνητικά με την αντίστοιχη απόλυτη διαφορά της FMD.

Αριθμητική διαφορά VE-Cadherin	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.752</b>	<b>0.000</b>
FMD	<b>-0.450</b>	<b>0.05</b>

Η απόλυτη διαφορά της **E-Selectin** σχετίζεται με την αντίστοιχη απόλυτη διαφορά του AIP και του vWf. Η θετική συσχέτιση διατηρείται και όταν εκφράζεται ως εκατοστιαία διαφορά της E-Selectin μετά και προ θεραπείας επί της τιμής προ της θεραπείας με την αντίστοιχη εκατοστιαία διαφορά του vWf.

Αριθμητική διαφορά E-Selectin	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.437</b>	<b>0.050</b>
vWF	<b>0.488</b>	<b>0.034</b>

% διαφορά E-Selectin	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>0.015</b>	<b>NS</b>
vWF	<b>0.535</b>	<b>0.018</b>

Η απόλυτη διαφορά της **FMD**, σχετίζεται αρνητικά με τις αντίστοιχες απόλυτες διαφορές της VE Cadherin, του AIP και του vWf , οι οποίες εκτός της απόλυτης διαφοράς με τον vWf, χάνονται όταν οι διαφορές αυτές εκφράζονται ως εκατοστιαίες διαφορές επί των αντίστοιχων τιμών προ θεραπείας.

Αριθμητική διαφορά FMD	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>-0.477</b>	<b>0.039</b>
VE-Cadherin	<b>-0.448</b>	<b>0.050</b>
vWF	<b>-0.457</b>	<b>0.049</b>

% διαφορά FMD	Correlation Coefficient	p
AIP	<b>-0.326</b>	<b>NS</b>
VE-Cadherin	<b>-0.081</b>	<b>NS</b>
vWF	<b>-0.458</b>	<b>0.050</b>

## Συμπεράσματα που προκύπτουν από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων

*Η βελτίωση της FMD από τη συγκεκριμένη οιστρογονοθεραπεία πρέπει να αποδοθεί όχι σε κάθε μια από τις επιμέρους προαναφερθείσες παραμέτρους μεμονωμένα, αλλά είτε σε συνδυασμό τους ή και σε διαφορετικές παραμέτρους μη ελεγχθείσες στην παρούσα μελέτη όπως π.χ. η απόπτωση. Καθώς η άρση του αιτίου (AIP) που θα μπορούσε να προκαλέσει διαταραχή του ενδοθηλιογενούς αγγειακού τόνου (FMD), δεν σχετίζεται μετά από οιστρογονοθεραπεία με τον ενδοθηλιογενή αγγειακό τόνο, ο τελευταίος (FMD) μπορεί ανεξάρτητα από τη θεραπεία να επιδεινωθεί αυτόνομα, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη αυτόνομης παρακολούθησης του.*

*Η απώλεια της θετικής συσχέτισης της E-Selectin με τον AIP υποδεικνύει ότι η μείωση της πρώιμης ενδοθηλιογενούς προσκολλητικότητας (E-Selectin) των μονοκυττάρων και των μακροφάγων επιτυγχάνεται ανεξάρτητα από την μείωση του AIP. Καθώς η άρση του αιτίου (AIP) που θα μπορούσε να προκαλέσει διαταραχή της πρώιμης ενδοθηλιογενούς προσκολλητικότητας (soluble E-Selectin) δεν σχετίζεται μετά από οιστρογονοθεραπεία με την πρώιμη ενδοθηλιογενή προσκολλητικότητα, η τελευταία (E-Selectin) μπορεί ανεξάρτητα από τη θεραπεία να επιδεινωθεί αυτόνομα, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη αυτόνομης παρακολούθησης της.*

*Η διατήρηση μετά την θεραπεία της θετικής συσχέτισης της E-Selectin με το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (IMT) υποδεικνύει ότι οι μεταβολές της πρώιμης ενδοθηλιογενούς προσκολλητικότητας πιθανότατα συμμετέχουν στον παθογενετικό μηχανισμό της IMT.*

*Η πρώιμη διέγερση του ενδοθηλίου αποδεδειγμένη από τη συσχέτισή της με το αθηρωματικό δυναμικό μετά από οιστρογονοθεραπεία ενώ παραμένει σταθερός παράγοντας καρωτιδικής αθηροσκλήρυνσης. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδεικνύουν την ανάγκη διατήρησης*

*χαμηλών επιπέδων αθηρωματικού δυναμικού και μάλιστα κατά προτίμηση χωρίς θεραπευτική παρέμβαση σε επίπεδο ενδοθηλιοανεξάρτητου αγγειακού τόνου όπως η οιστρογονοθεραπεία.*

Η αρνητική συσχέτιση της VE-Cadherin με την FMD υποδεικνύει την *εμπλοκή της πρώτης (VE-Cadherin) στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό διαμόρφωσης της σφυγμικής διατασιμότητας (FMD)*. Όπως προαναφέρθηκε μετά την θεραπεία αίρεται η αρνητική συσχέτιση της VE-Cadherin με την FMD. Το τελευταίο αυτό εύρημα εισηγείται ότι *η μεταβολή (βελτίωση/επιδείνωση) της όψιμης ενδοθηλιογενούς συνεκτικότητας-συνοχής μετά την θεραπεία δεν συνδέεται παθοφυσιολογικά με την βελτίωση της FMD*. Έτσι, για παράδειγμα, πιθανή επανενδοθηλιοποίηση από την οιστρογονοθεραπεία δεν είναι σίγουρο ότι θα βελτιώσει τον ενδοθηλιογενή αγγειακό τόνο.

Η απώλεια της συσχέτισης του αθηρωματικού δυναμικού με την πρώιμη διέγερση του αγγειακού ενδοθηλίου, ΟΧΙ ΟΜΩΣ και με την όψιμη διαταραχή του αγγειακού ενδοθηλίου από την οιστρογονοθεραπεία, ίσως υποδεικνύουν ότι *η άρση του αιτίου διέγερσης δεν είναι απαραίτητο να υποστρέφει και την ενδοθηλιακή βλάβη που μπορεί να συνεχίσει να λειτουργεί αυτόνομα σε βάρος του αγγειακού ενδοθηλίου και γι' αυτό να απαιτεί ξεχωριστή παρακολούθηση ή και θεραπευτική παρέμβαση.*

Η θετική συσχέτιση του AIP με την E-Selectin χάνεται υποδεικνύοντας ότι η βελτίωση του πρώτου (AIP) από την θεραπεία δεν σχετίζεται παθοφυσιολογικά με την πρώιμη ενδοθηλιογενή προσκολλησιμότητα αλλά μόνο με την όψιμη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (λόγω παραμονής της θετικής συσχέτισης με την VE-Cadherin).

Η διατήρηση της συσχέτισης του αθηρωματικού δυναμικού με την αιμόσταση που ενισχύεται μετά από τη θεραπεία, αλλά και με την όψιμη δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου υποδεικνύει ότι *το αθηρωματικό δυναμικό αποτελεί σταθερό και διαρκή παράγοντα βλάβης του αγγειακού ενδοθηλίου, ακόμα ΚΑΙ μετά από θεραπεία*. Η απώλεια της συσχέτισης του

αθηρωματικού δυναμικού μετά από τη θεραπεία, με την πρώιμη διέγερση του αγγειακού ενδοθηλίου υποδηλώνει ότι *η κάθε μετέπειτα θεραπευτική παρέμβαση στον αθηρωματικό δείκτη δεν θα μπορεί να επηρεάσει πλέον ευνοϊκά την πρώιμη διέγερση του αγγειακού ενδοθηλίου*. Ως εκ τούτου η περαιτέρω επιδείνωση της πρώιμης διέγερσης του αγγειακού ενδοθηλίου θα μπορούσε να θεωρηθεί και ανεξάρτητη από τον αρχικό διεγερτικό παράγοντα (AIP). Έτσι, *η θεραπευτική παρέμβαση θα πρέπει να γίνεται έγκαιρα ώστε να προληφθεί η έγερση της πρώιμης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας για να μη λειτουργήσει αυτή στη συνέχεια ανεξάρτητα από συμβατικές θεραπευτικές αγωγές*.

Η απόλυτη (αριθμητική) διαφορά της FMD (FMD μετά θεραπεία – FMD προ θεραπεία) μετά και προ θεραπείας, σχετίζεται αρνητικά με τις αντίστοιχες απόλυτες διαφορές της VE Cadherin, του AIP και του vWf, οι οποίες συσχετίσεις εκτός εκείνης της απόλυτης διαφοράς με τον vWf, χάνονται όταν οι διαφορές αυτές εκφράζονται ως εκατοστιαίες διαφορές επί των αντίστοιχων τιμών προ θεραπείας. Αυτό το εύρημα υποδεικνύει ότι *οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί στους οποίους θα πρέπει να αποδοθούν αυτές οι διαφορές από την θεραπευτική αγωγή, θα πρέπει να σχετισθούν με αυτή καθ' αυτή την διαφορά και όχι με το ύψος των τιμών εκκίνησης προ θεραπείας*.

Η διατήρηση της (αρνητικής) συσχέτισης των απόλυτων διαφορών αλλά και των εκατοστιαίων διαφορών ως προς τις αντίστοιχες τιμές προ θεραπείας, της FMD, υποδεικνύει ότι εξαρτώνται τόσο από την τιμή εκκίνησης όσο και από το ποσοστό μείωσης.

Η απόλυτη διαφορά της E-Selectin μετά και προ θεραπείας σχετίζεται με την αντίστοιχη απόλυτη διαφορά του AIP και του vWf, υποδεικνύοντας ότι *το θεραπευτικό αποτέλεσμα της*

*χορηγηθείσας φαρμακευτικής αγωγής στους προαναφερθέντες δείκτες σχετίζεται με αυτή καθ' αυτή την μείωση και όχι με την τιμή αφετηρίας προ θεραπείας.*

Η διατήρηση της θετικής συσχέτισης της εκατοστιαίας διαφοράς της E-Selectin μετά και προ θεραπείας, επί της τιμής προ της θεραπείας (εκατοστιαία αναλογία) με την αντίστοιχη εκατοστιαία διαφορά του vWf υποδεικνύει ότι *η πιθανή παθοφυσιολογική βελτίωση των δυο αυτών δεικτών από την θεραπευτική αγωγή, σχετίζεται όχι μόνο με την επιτυγχανόμενη μείωση αλλά και με την τιμή αφετηρίας προ θεραπείας.*

Η διατήρηση της συσχέτισης της ενδοθηλιογενούς αιμοπεταλιοεξαρτημένης αιμόστασης (vWf) με την ενδοθηλιογενή αιμοπεταλιοανεξάρτητη αιμόσταση (thrombomodulin), την όψιμη δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου (VE-Cadherin) και τον αθηρωματικό δείκτη (AIP), τόσο ΠΡΟ όσο και ΜΕΤΑ από τη θεραπεία, ΠΑΡΑ τη ΜΗ στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση των επιπέδων του vWf, υποδεικνύει ότι όλες αυτές οι σχετιζόμενες παράμετροι συμβάλουν στη διαμόρφωση των επιπέδων του vWf προ και μετά από τη θεραπεία, αλλά η βελτίωση τους από μόνη της δεν επαρκεί για να βελτιώσει στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα του vWf πιθανά γιατί αυτά διαμορφώνονται και από άλλες παραμέτρους ή γιατί δεν συμβάλει στην μετά θεραπεία διαμόρφωση τους ο ενδοθηλιογενής αγγειακός τόνος. Παρά ταύτα, η βελτίωση του αγγειακού τόνου μετά από τη θεραπεία σχετίζεται τόσο με το βαθμό βελτίωσης του vWf όσο και με τα επίπεδα εκκίνησης της βελτίωσης αυτής. Η αντίφαση θα πρέπει να αποδοθεί στο είδος της θεραπείας καθώς, *η οιστρογονοθεραπεία λειτουργεί ως αναστολέας των διαύλων ασβεστίου τύπου L επιδρώντας κυρίως στον ενδοθηλιογενή και ενδοθηλιοανεξάρτητο αγγειακό τόνο.* Έτσι, η αδυναμία διαμόρφωσης των μεταθεραπευτικών τιμών του vWf από τον αγγειακό τόνο αλλά μόνο από τον αθηρωματικό δείκτη, την αιμοπεταλιοανεξάρτητη αιμόσταση και την όψιμη ενδοθηλιακή



δυσλειτουργία δεν επαρκεί για να βελτιώσει τα επίπεδα του vWf στατιστικά σημαντικά. Η άποψη αυτή θα μπορούσε να ενισχυθεί και από την υπόθεση ότι , με δεδομένη τη συσχέτιση της βελτίωσης του αγγειακού τόνου από την οιστρογονοθεραπεία όχι μόνο με την μεταβολή των τιμών ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΙΜΩΝ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ του vWf, είναι ΔΥΣΚΟΛΗ περαιτέρω μείωση των επιπέδων του vWf από χαμηλές τιμές εκκίνησης.

Η απώλεια της συσχέτισης με τον ενδοθηλιογενή αγγειακό τόνο μετά τη θεραπεία, εξαιτίας της άμεσης παθοφυσιολογικής παρέμβασης της θεραπείας αυτής στον αγγειακό τόνο πιθανολογείται ως αιτία μη στατιστικά σημαντικής μείωσης των επιπέδων της θρομβομοδουλίνης από τη συγκεκριμένη θεραπευτική παρέμβαση.

Συνδυαστικά τα δύο αυτά στοιχεία ίσως δικαιολογούν τη συνολική αδυναμία βελτίωσης από την οιστρογονοθεραπεία τόσο της αιμοπεταλιοεξαρτημένης όσο και της αιμοπεταλιοανεξάρτητης αιμόστασης (ίσως λόγω της αδυναμίας διαμόρφωσης των μεταθεραπευτικών επιπέδων της ενδοθηλιογενούς αιμόστασης από τον αγγειακό τόνο ή κυρίως λόγω των χαμηλών τιμών εκκίνησης των δεικτών της ενδοθηλιογενούς αιμόστασης). Η τελευταία παρατήρηση πρέπει να εκληφθεί ως εμπειρική καθώς για την απόδειξη της θα απαιτείτο ομάδα ελέγχου με φυσιολογικό αγγειακό ενδοθήλιο.

## ΣΥΝΟΛΙΚΑ:

Η απόκριση του αγγειακού ενδοθηλίου στην οιστρογονοθεραπεία καθορίζεται γενικά από το χρόνο έναρξης της θεραπείας, από την κατάσταση του αγγειακού ενδοθηλίου τη χρονική στιγμή έναρξης της θεραπείας αλλά και από γενετικούς και μεταβολικούς παράγοντες.

Η επίδραση της οιστρογονοθεραπείας στη συγκεκριμένη νοσολογική ομάδα της μελέτης μπορεί να συνοψισθεί στα ακόλουθα:

1. Το αθηρωματικό δυναμικό επηρεάζει πρώιμη και όψιμη αγγειακή δυσλειτουργία και αγγειακό τόνο αλλά και αιμοπεταλιοεξαρτημένη αιμόσταση
2. Η οιστρογονοθεραπεία μεταβάλλει (βελτιώνει ;) όλους τους δείκτες εκτός από τους δείκτες αιμόστασης
3. Το μεταθεραπευτικό αθηρωματικό δυναμικό δεν επηρεάζει πλέον την πρώιμη αλλά μόνο την όψιμη βλάβη του ενδοθηλίου. Γι' αυτό πιθανή περαιτέρω θεραπευτική παρέμβαση θα πρέπει να στοχεύει ανεξάρτητα στη διόρθωση αυτών των δύο παραμέτρων , κάτι που η οιστρογονοθεραπεία για εξάμηνο το επιτυγχάνει
4. Το αθηρωματικό δυναμικό αποτελεί διαρκή παράγοντα όψιμης βλάβης και καρωπιδικής αθηροσκλήρυνσης αλλά δεν αποτελεί διαρκή παράγοντα επιρροής στην πρώιμη βλάβη.
5. Η όψιμη βλάβη δεν αποτελεί διαρκή παράγοντα επιρροής του αγγειακού τόνου. Έτσι, η θεραπεία οφείλει να αντιμετωπίζει ξεχωριστά αθηρωματικό δυναμικό από τη μία και πρώιμη βλάβη και αγγειακό τόνο από την άλλη. Επιπλέον υπονοεί ότι η διόρθωση του συμβατικού παράγοντα κινδύνου δεν υποστρέφει υποχρεωτικά την ενδοθηλιακή βλάβη.

6. Εξάρτηση του βαθμού βελτίωσης του αθηρωματικού δυναμικού από το βαθμό βελτίωσης του αγγειακού τόνου και την όψιμης βλάβης αλλά ΚΑΙ ΕΞΑΡΤΗΣΗ τόσο από το βαθμό βελτίωσης της αιμοπεταλιοεξαρτημένης αιμόστασης όσο και το επίπεδο εκκίνησης της. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν ότι οι τιμές εκκίνησης του αγγειακού τόνου και την όψιμης ενδοθηλιακής βλάβης δεν μπορούν να αποτελέσουν ένδειξη έναρξης θεραπείας ενώ αντίθετα αυτό μπορεί να συμβεί με την ενδοθηλιογενή αιμοπεταλιοεξαρτημένη αιμόσταση και ότι η έγκαιρη διόρθωση ακόμα και εντός φυσιολογικών ορίων μπορεί να βελτιώσει την εικόνα του αγγειακού ενδοθηλίου αν και πιθανά να είναι δυσκολότερη αν η τιμή εκκίνησης είναι χαμηλή, ιδιαίτερα αν ληφθεί υπόψη η αποδέσμευση της πρώιμης ενδοθηλιακής διέγερσης και του ενδοθηλιογενούς αγγειακού τόνου από το αθηρωματικό δυναμικό

7. Καθώς η βελτίωση τόσο του αγγειακού τόνου όσο και της πρώιμης βλάβης σχετίζονται τόσο με το βαθμό βελτίωσης όσο και με την τιμή εκκίνησης της αιμοπεταλιοεξαρτημένης αιμόστασης , τότε ο παράγοντας vWf θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως δείκτης έναρξης θεραπείας βελτίωσης του αγγειακού ενδοθηλίου

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη καταδείχθηκε με αναλυτικό τρόπο ότι 6 μήνες ΘΟΥ σε 46 ΧΥ θήλεα επέφερε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ και της ενδοθηλιακής λειτουργίας, με παράλληλη μείωση των προφλεγμονωδών δεικτών της αθηροσκλήρωσης. Κατόπιν ενδελεχούς διερεύνησης στις βιβλιογραφικές βάσεις δεδομένων φαίνεται πως η παρούσα μελέτη αποτελεί πρωτότυπη έρευνα σε ασθενείς με 46,ΧΥ DSD. Μέχρι σήμερα το ενδιαφέρον για αυτούς τους ασθενείς είχε εστιαστεί στην πρόληψη της κακοήθους εξαλλαγής, στην ενήβωση και την εμμηναρχή (Σ. Swyer), στη δυνατότητα ολοκλήρωσης των σεξουαλικών επαφών (CAIS), και στην επίτευξη & διατήρηση της μέγιστης οστικής μάζας.

Η επίδραση των οιστρογόνων στο καρδιαγγειακό σύστημα έχει εκτενώς μελετηθεί τόσο σε νεαρές κοπέλες με υπογοναδισμό όσο και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Στην πρώτη ομάδα, οι μελέτες επικεντρώθηκαν στον προσδιορισμό κυκλοφορούντων βιοχημικών δεικτών (vWf, λιπιδαιμικό προφίλ), δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας (FMD) ή δείκτες αρχιτεκτονικής των αρτηριών (IMT). Τα δεδομένα που αφορούν σε γυναίκες μεγαλύτερων ηλικιών προκύπτουν από μεγάλες διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες μελέτες, και είχαν σαν τελικό στόχο τον εντοπισμό οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Τα Οιστρογόνα έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία στις ασθενείς με υποοιστρογοναιμία χωρίς προϋπάρχουσα εγκατεστημένη αθηροσκλήρωση. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας επέρχεται τόσο από την βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ όσο και μέσω άμεσης επίδρασης στο ενδοθήλιο.<sup>409, 425</sup>

Το λιπιδαιμικό προφίλ έχει ευρύτατα χρησιμοποιηθεί προκειμένου να εκτιμηθεί ο κίνδυνος για καρδιαγγειακά συμβάματα (CVD)<sup>426, 427</sup> .. Παρότι έχει δημοσιευθεί η ακριβής προγνωστική αξία

εκάστου μεμονωμένου παράγοντα, υπάρχουν πολλαπλές ενδείξεις που καταδεικνύουν ότι η συσχέτιση των παραγόντων αυτών μπορεί να αποδώσει με μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Ο τροποποιημένος αθηρωματικός δείκτης [Atherogenic Index of Plasma (log TG/HDL-C)], ειδικότερα, έχει προταθεί ως ο πλέον ευαίσθητος προγνωστικός παράγοντας για CVD. Είναι δυνατόν να κατατάξουμε έναν ασθενή στην ομάδα υψηλού κινδύνου ακόμα και στην περίπτωση όπου τα ολικά λιπίδια και τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών είναι εντός φυσιολογικών ορίων <sup>428</sup>.

Στην παρούσα μελέτη, τα επίπεδα της HDL, στην πλειονότητα των συμμετεχουσών ασθενών, μετρήθηκαν κάτω από τα όρια που προτείνονται από το εθνικό πρόγραμμα εκπαίδευσης για την χοληστερόλη. Παρότι η ΘΟΥ επέφερε αύξηση της HDL, τα επίπεδά της παρέμειναν κάτω από τα φυσιολογικά όρια. Οι μισές ασθενείς, κατά την έναρξη της μελέτης, ενεφάνισαν υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων σύμφωνα με την American Heart Association. Σχεδόν το σύνολο των ασθενών, μετά την εξάμηνη αγωγή, εμφάνισαν σημαντική βελτίωση και οι τιμές τους ήταν εντός φυσιολογικών ορίων. Οι τιμές του AIP, στην έναρξη της μελέτης, κατέτασσαν τους μισούς ασθενείς στην ομάδα υψηλού κινδύνου για CVD. Η σημαντική βελτίωση του AIP μετά το πέρας της εξάμηνης αγωγής δεικνύει ότι η ΘΟΥ ασκεί μια καρδιοπροστατευτική δράση στις ΧΥ γυναίκες μέσω της βελτίωσης του λιπιδαιμικού προφίλ.

Στις περισσότερες μελέτες, στις οποίες εκτιμήθηκε το λιπιδαιμικό προφίλ, οι συμμετέχουσες ήταν σε υποοιστογοναιμία λόγω φυσιολογικής εμμηνόπαυσης και ήδη κατά την εισαγωγή τους σε αυτές, ενεφάνιζαν αυξημένη ολική χοληστερόλη και αυξημένη LDL. Τα αποτελέσματα μεγάλων RCTs έδειξαν ότι η λήψη ΘΟΥ επέφερε μείωση των επιπέδων LDL και ολικής χοληστερόλης, αύξηση της HDL, και μία μη επιθυμητή αύξηση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων <sup>429, 430</sup>. Υπάρχουν λιγότερες μελέτες στις οποίες να εκτιμήθηκε το λιπιδαιμικό προφίλ προ της χορηγήσεως ΘΟΥ σε νεαρές γυναίκες με ΡΟΙ, και στις οποίες αναφέρονται υψηλά επίπεδα

TC και LDL ή χαμηλά επίπεδα HDL ταυτόχρονα με αυξημένα επίπεδα TG <sup>431, 432</sup>. Δεν υπάρχουν RCTs, στις οποίες να υπολογίσθηκε η δράση της ΘΟΥ στο λιπιδαιμικό προφίλ νεαρών γυναικών. Μελέτες παρατήρησης, με μικρό αριθμό συμμετεχουσών, εμφανίζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, αναφέροντας καμία<sup>433</sup> ή μικρή επίδραση της θεραπείας στα επίπεδα των λιπιδίων <sup>434, 435</sup>.

Η VE-Cadherin δεν έχει κλινικά καθιερωθεί ως δείκτης αθηροσκλήρωσης αλλά υπάρχουν δημοσιεύσεις που έχουν συσχετίσει τα επίπεδα της με την καρδιαγγειακή νόσο <sup>436</sup>. Στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα της VE-Cadherin μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά μετά την θεραπεία. Τα ευρήματα αυτά εισηγούνται την αναχαίτηση της προόδου της αθηροσκλήρωσης ήδη από τα αρχικά στάδια της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Παρόμοια ευρήματα, με στατιστικά σημαντική μείωση της VE-Cadherin έχουν ανακοινωθεί σε μια μελέτη στην οποία χορηγήθηκε ΘΟΥ ή ραλοξαφαίνη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες <sup>414</sup>.

Τα αυξημένα επίπεδα διαλυτής E-selectin (sE-sel) έχουν συσχετισθεί με παθολογικές καταστάσεις όπως η παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η καρδιαγγειακή νόσος <sup>437,438,439</sup>. Στην παρούσα μελέτη διεφάνη μια στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της sE-selectin μετά την θεραπεία, υποδεικνύοντας ότι η ΘΟΥ προστατεύει στα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δημοσιευθεί σε μελέτες στις οποίες συμμετείχαν μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και επιβεβαιώθηκαν από μετα-αναλύσεις των δεδομένων τους. <sup>440</sup>

Η δράση της ΘΟΥ στην ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αιμόσταση έχει εκτιμηθεί μέσω μέτρησης των επιπέδων της διαλυτής Thrombomodulin και του vWf. Στις ασθενείς της παρούσας μελέτης δεν ανεδείχθη στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση προ και μετά την εξάμηνη αγωγή. Ο σχετικά μικρός αριθμός των συμμετεχουσών ασθενών πιθανά να μη επέτρεψε την ανάδειξη στατιστικά

σημαντικών μεταβολών στις τιμές των προαναφερθεισών παραμέτρων. Παρόμοια ευρήματα έχουν περιγραφεί σε μελέτες στις οποίες συμμετείχαν υγιείς, πρόσφατα εμμηνόπαυσιακές, γυναίκες οι οποίες έλαβαν παρόμοιο θεραπευτικό σχήμα.<sup>441,442,443,444,445</sup>

Η εξαρτώμενη από την ροή αγγειοδιαστολή (FMD) βελτιώθηκε στατιστικά σημαντικά στην πλειονότητα των ασθενών της μελέτης, υποδεικνύοντας μια βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Στην μεταβολή αυτή πιθανότατα συμμετείχε τόσο η βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ όσο και η μετατροπή των βιοχημικών δεικτών σε άλλοτε άλλο βαθμό. Η FMD αποτελεί έναν καθιερωμένο δείκτη για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού ρίσκου, και εξ' αυτών των αποτελεσμάτων συνάγεται το συμπέρασμα ότι η ΘΟΥ ασκεί καρδιοπροστατευτική δράση στις ασθενείς.<sup>446,447,448</sup> Βελτίωση της FMD μετά από, έστω και βραχυχρόνια, θεραπεία έχει διαφανεί τόσο σε υγιείς μετεμμηνόπαυσιακές όσο και σε υπογοναδικές νεότερες γυναίκες.<sup>408,449,450,451</sup> Δεν παρατηρείται παρόμοια βελτίωση σε ασθενείς με προϋπάρχουσα αθηροσκλήρυνση. Η ΘΟΥ αποτυγχάνει να επαναφέρει την ενδοθηλιακή λειτουργία, ακόμα και μετά από μακροχρόνια θεραπεία.<sup>452,453,454</sup>

Η δράση της ΘΟΥ στην αθηροκληρυντική διεργασία εκτιμήθηκε και διαμέσου της αρχιτεκτονικής δομής του αγγείου, και πιο συγκεκριμένα μετρώντας το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα στις καρωτιδικές και στις μηριαίες αρτηρίες. Δεν ανευρέθησαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μηριαίων και των διαφόρων σημείων των καρωτιδικών αρτηριών πλην του καρωτιδικού βολβού. Οι μέχρι σήμερα δημοσιευθείσες εργασίες αφορούν σε δωδεκάμηνη αγωγή μετεμμηνόπαυσιακών γυναικών και έχουν περιγράψει θετική επίδραση στο IMT της καρωτιδικής αρτηρίας.<sup>455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462</sup> Η μεταβολή αυτή παρατηρήθηκε μόνο σε υγιείς μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες και όχι σε αυτές με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο.<sup>463</sup> Παρόμοια δημοσιευμένα αποτελέσματα περιγράφονται σε νεαρές υπογοναδικές ασθενείς οι οποίες κατόπιν μακροχρόνιας λήψης ΘΟΥ ενεφάνισαν βελτίωση του IMT των καρωτίδων.<sup>407</sup> Στην

παρούσα σειρά μελετηθέντων ασθενών η ΘΟΥ επέφερε μείωση του IMT και συνεπώς η ΘΟΥ μείωσε τον κίνδυνο για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα. Η αποτυχία ανάδειξης στατιστικά σημαντικής μείωσης πιθανότατα οφείλεται στην περιορισμένη (εξάμηνη) χορήγηση του θεραπευτικού σχήματος. Τυχούσα μακροβιότερη χορήγηση θα επέτυγχανε την σκοπούμενη μείωση του IMT, ο οποίος αδιαμφισβήτητα αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη της αρχιτεκτονικής των αρτηριών.

Η ισχύς της παρούσας μελέτης είναι περιορισμένη λόγω του μικρού αριθμού των συμμετεχουσών ασθενών. Αυτό οφείλεται στην σπανιότητα ανεύρεσης ασθενών με τα συγκεκριμένα σύνδρομα (Swyer και CAIS). Συμμετοχή μεγαλύτερου αριθμού ασθενών πιθανόν να αναδείκνυε στατιστικά σημαντικές διαφορές σε παραμέτρους στις οποίες δεν έγινε εφικτό. Η απουσία control group αποτελεί ένα μειονέκτημα για την στατιστική ανάλυση των προαναφερθέντων αποτελεσμάτων. Η χορήγηση εικονικού φαρμάκου θα μετέτρεπε την μελέτη σε παρεμβατική και ο ΕΟΦ απαιτούσε την ασφάλιση εκάστης ασθενούς με ένα υψηλό τίμημα. Ένας επιπλέον λόγος μη χορήγησης εικονικού φαρμάκου ήταν ότι η πλειοψηφία των συμμετεχουσών βρισκόνταν στην ήβη ή στα πρώτα μετεφηβικά χρόνια και η ΘΟΥ ήταν απαραίτητη για την επίτευξη ή την συνέχισή της προκειμένου να μην ανακοπεί η δημιουργία της μέγιστης οστικής μάζας. Η συμμετοχή ενός control group (ανδρών ή γυναικών ?) με παρόμοια χαρακτηριστικά σε ηλικία και Δείκτη Σωματικής Μάζας δεν κατέστη εφικτή μιας και το εξετασθέν δείγμα αποτελούσαν φαινοτυπικά θήλεα με καρυότυπο άρρενος.

Συνοψίζοντας, οι συμμετέχουσες 46, XY DSD ασθενείς ενεφάνιζαν προ θεραπείας ένα δυσμενές λιπιδαιμικό προφίλ που τις έθετε σε αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο. Η χορήγηση ΘΟΥ απεδείχθη ευεργετική όχι μόνο επειδή βελτίωσε το λιπιδαιμικό προφίλ αλλά και διότι ανέστρεψε την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης (όπως αυτή αποδείχθηκε από την IMT και sE-selectin). Επίσης βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία (FMD και sVE-Cadherin) δίχως να



επιβεβαιώσει την ενδοθελιοεξαρτώμενη αιμόσταση. Η χρήση διαφορετικών ειδών ορμονικής θεραπείας και οι διαφορετικές οδοί χορήγησης των ορμονικών θεραπειών πρέπει να αποτελέσουν τη συνέχεια της παρούσας μελέτης σε αυτό το σπάνιο πληθυσμιακό υποσύνολο. Η προσθήκη νεότερων ασθενών και η μακροχρόνια συνέχιση παρακολούθησης των ήδη εισηγμένων, θα επιβεβαιώσει ή θα ανατρέψει τα προαναφερθέντα συμπεράσματα, με τελικό στόχο πάντα να παρέχεται η βέλτιστη ιατρική φροντίδα.

## Βιβλιογραφία

---

<sup>1</sup> Mendonca BB, Domenice S, Arnhold IJ, Costa EM. 46,XY disorders of sex development (DSD). *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 Feb;70(2):173-87. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03392.x.

<sup>2</sup> Domenice S, Yumie Nishi M, Correia Billerbeck AE, Latronico AC, Aparecida Medeiros M, Russell AJ, Vass K, Marino Carvalho F, Costa Frade EM, Prado Arnhold IJ, Bilharinho Mendonca B. A novel missense mutation (S18N) in the 5' non-HMG box region of the SRY gene in a patient with partial gonadal dysgenesis and his normal male relatives. *Hum Genet*. 1998 Feb;102(2):213-5.

<sup>3</sup> Dumic M, Lin-Su K, Leibel NI, Ciglar S, Vinci G, Lasan R, Nimkarn S, Wilson JD, McElreavey K, New MI. Report of fertility in a woman with a predominantly 46,XY karyotype in a family with multiple disorders of sexual development. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Jan;93(1):182-9. Epub 2007 Nov 13.

<sup>4</sup> Philibert P, Zenaty D, Lin L, Soskin S, Audran F, Léger J, Achermann JC, Sultan C. Mutational analysis of steroidogenic factor 1 (NR5a1) in 24 boys with bilateral anorchia: a French collaborative study. *Hum Reprod*. 2007 Dec;22(12):3255-61. Epub 2007 Oct 16.

<sup>5</sup> Achermann JC, Ito M, Ito M, Hindmarsh PC, Jameson JL. A mutation in the gene encoding steroidogenic factor-1 causes XY sex reversal and adrenal failure in humans. *Nat Genet*. 1999 Jun;22(2):125-6.

<sup>6</sup> Correa RV, Domenice S, Bingham NC, Billerbeck AE, Rainey WE, Parker KL, Mendonca BB. A microdeletion in the ligand binding domain of human steroidogenic factor 1 causes XY sex reversal without adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Apr;89(4):1767-72.

- 
- <sup>7</sup> Coutant R, Mallet D, Lahlou N, Bouhours-Nouet N, Guichet A, Coupri L, Croué A, Morel Y. Heterozygous mutation of steroidogenic factor-1 in 46,XY subjects may mimic partial androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug;92(8):2868-73. Epub 2007 May 8.
- <sup>8</sup> Bardoni B, Zanaria E, Guioli S, Floridia G, Worley KC, Tonini G, Ferrante E, Chiumello G, McCabe ER, Fraccaro M, et al. A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nat Genet.* 1994 Aug;7(4):497-501.
- <sup>9</sup> Jordan BK, Mohammed M, Ching ST, Délot E, Chen XN, Dewing P, Swain A, Rao PN, Elejalde BR, Vilain E. Up-regulation of WNT-4 signaling and dosage-sensitive sex reversal in humans. *Am J Hum Genet.* 2001 May;68(5):1102-9. Epub 2001 Mar 29.
- <sup>10</sup> Opitz JM. RSH/SLO ("Smith-Lemli-Opitz") syndrome: historical, genetic, and developmental considerations. *Am J Med Genet.* 1994 May 1;50(4):344-6.
- <sup>11</sup> Berthezène F, Forest MG, Grimaud JA, Claustrat B, Mornex R. Leydig-cell agenesis: a cause of male pseudohermaphroditism. *N Engl J Med.* 1976 Oct 28;295(18):969-72.
- <sup>12</sup> Arnhold IJ, Mendonça BB, Bloise W, Toledo SP. Male pseudohermaphroditism resulting from Leydig cell hypoplasia. *J Pediatr.* 1985 Jun;106(6):1057.
- <sup>13</sup> Latronico AC, Anasti J, Arnhold IJ, Rapaport R, Mendonca BB, Bloise W, Castro M, Tsigos C, Chrousos GP. Brief report: testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone-receptor gene. *N Engl J Med.* 1996 Feb 22;334(8):507-12.
- <sup>14</sup> Bose HS, Sugawara T, Strauss JF 3rd, Miller WL; International Congenital Lipoid Adrenal Hyperplasia Consortium. Collaborators (11) Fujieda K, Ben-Neriah Z, Rösler A, Müller J, Schwartz M, Skakkebaeck NE, Nawas MN, Papadimitriou A, Winter JS, Cowell CT, Warne G. The pathophysiology and genetics of congenital lipoid adrenal hyperplasia. *N Engl J Med.* 1996 Dec 19;335(25):1870-8.
- <sup>15</sup> Kim CJ, Lin L, Huang N, Quigley CA, AvRuskin TW, Achermann JC, Miller WL. Severe combined adrenal and gonadal deficiency caused by novel mutations in the cholesterol side chain cleavage enzyme, P450<sub>scc</sub>. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Mar;93(3):696-702. doi: 10.1210/jc.2007-2330. Epub 2008 Jan 8.
- <sup>16</sup> Rosa S, Duff C, Meyer M, Lang-Muritano M, Balercia G, Boscaro M, Topaloglu AK, Mioni R, Fallo F, Zuliani L, Mantero F, Schoenle EJ, Biason-Lauber A. P450<sub>c17</sub> deficiency: clinical and molecular characterization of six patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Mar;92(3):1000-7. Epub 2006 Dec 27.
- <sup>17</sup> Andersson S, Geissler WM, Wu L, Davis DL, Grumbach MM, New MI, Schwarz HP, Blethen SL, Mendonca BB, Bloise W, Witchel SF, Cutler GB Jr, Griffin JE, Wilson JD, Russel DW. Molecular genetics and pathophysiology of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Jan;81(1):130-6.

- 
- <sup>18</sup> Costa EM, Domenice S, Sircili MH, Inacio M, Mendonca BB. DSD due to 5 $\alpha$ -reductase 2 deficiency - from diagnosis to long term outcome. *Semin Reprod Med.* 2012 Oct;30(5):427-31. doi: 10.1055/s-0032-1324727. Epub 2012 Oct 8.
- <sup>19</sup> Adachi M, Takayanagi R, Tomura A, Imasaki K, Kato S, Goto K, Yanase T, Ikuyama S, Nawata H. Androgen-insensitivity syndrome as a possible coactivator disease. *N Engl J Med.* 2000 Sep 21;343(12):856-62.
- <sup>20</sup> Cox MB, Riggs DL, Hessling M, Schumacher F, Buchner J, Smith DF. FK506-binding protein 52 phosphorylation: a potential mechanism for regulating steroid hormone receptor activity. *Mol Endocrinol.* 2007 Dec;21(12):2956-67. Epub 2007 Aug 23.
- <sup>21</sup> Josso N, Rey R, Picard JY. Testicular anti-Müllerian hormone: clinical applications in DSD. *Semin Reprod Med.* 2012 Oct;30(5):364-73. doi: 10.1055/s-0032-1324719. Epub 2012 Oct 8.
- <sup>22</sup> Vilela ML, Willingham E, Buckley J, Liu BC, Agras K, Shiroyanagi Y, Baskin LS. Endocrine disruptors and hypospadias: role of genistein and the fungicide vinclozolin. *Urology.* 2007 Sep;70(3):618-21.
- <sup>23</sup> Main KM, Jensen RB, Asklund C, Høi-Hansen CE, Skakkebaek NE. Low birth weight and male reproductive function. *Horm Res.* 2006;65 Suppl 3:116-22. Epub 2006 Apr 10. Review.
- <sup>24</sup> Walker AM, Walker JL, Adams S, Shi E, McGlynn M, Verge CF. True hermaphroditism. *J Paediatr Child Health.* 2000 Feb;36(1):69-73.
- <sup>25</sup> Huhtaniemi I, Alevizaki M. Mutations along the hypothalamic-pituitary-gonadal axis affecting male reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2007 Dec;15(6):622-32.
- <sup>26</sup> MORRIS JM. The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites. *Am J Obstet Gynecol.* 1953 Jun;65(6):1192-1211.
- <sup>27</sup> Boehmer AL, Brinkmann O, Brüggewirth H, van Assendelft C, Otten BJ, Verleun-Mooijman MC, Niermeijer MF, Brunner HG, Rouwé CW, Waelkens JJ, Oostdijk W, Kleijer WJ, van der Kwast TH, de Vroede MA, Drop SL. Genotype versus phenotype in families with androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;86(9):4151-60.
- <sup>28</sup> Hurme T, Lahdes-Vasama T, Makela E, Iber T, Toppari J. Clinical findings in prepubertal girls with inguinal hernia with special reference to the diagnosis of androgen insensitivity syndrome. *Scand J Urol Nephrol.* 2009;43(1):42-6. doi: 10.1080/00365590802299247.
- <sup>29</sup> Hughes IA, Davies JD, Bunch TI, Pasterski V, Mastroyannopoulou K, MacDougall J. Androgen insensitivity syndrome. *Lancet.* 2012 Oct 20;380(9851):1419-28. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60071-3. Epub 2012 Jun 13.
- <sup>30</sup> Danilovic DL, Correa PH, Costa EM, Melo KF, Mendonca BB, Arnhold IJ. Height and bone mineral density in androgen insensitivity syndrome with mutations in the androgen receptor gene. *Osteoporos Int.* 2007 Mar;18(3):369-74. Epub 2006 Nov 1.

- 
- <sup>31</sup> Sinnecker GH, Hiort O, Nitsche EM, Holterhus PM, Kruse K. Functional assessment and clinical classification of androgen sensitivity in patients with mutations of the androgen receptor gene. German Collaborative Intersex Study Group. *Eur J Pediatr*. 1997 Jan;156(1):7-14.
- <sup>32</sup> Rey RA, Belville C, Nihoul-Fékété C, Michel-Calemard L, Forest MG, Lahlou N, Jaubert F, Mowszowicz I, David M, Saka N, Bouvattier C, Bertrand AM, Lecointre C, Soskin S, Cabrol S, Crosnier H, Léger J, Lortat-Jacob S, Nicolino M, Rabl W, Toledo SP, Baş F, Gompel A, Czernichow P, Josso N, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Feb;84(2):627-31.
- <sup>33</sup> Bay K, Virtanen HE, Hartung S, Ivell R, Main KM, Skakkebaek NE, Andersson AM; Nordic Cryptorchidism Study Group, Toppari J. Insulin-like factor 3 levels in cord blood and serum from children: effects of age, postnatal hypothalamic-pituitary-gonadal axis activation, and cryptorchidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Oct;92(10):4020-7. Epub 2007 Jul 31.
- <sup>34</sup> Rey R, Mebarki F, Forest MG, Mowszowicz I, Cate RL, Morel Y, Chaussain JL, Josso N. Anti-müllerian hormone in children with androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Oct;79(4):960-4.
- <sup>35</sup> Boukari K, Meduri G, Brailly-Tabard S, Guibourdenche J, Ciampi ML, Massin N, Martinerie L, Picard JY, Rey R, Lombès M, Young J. Lack of androgen receptor expression in Sertoli cells accounts for the absence of anti-Müllerian hormone repression during early human testis development. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 May;94(5):1818-25. doi: 10.1210/jc.2008-1909. Epub 2009 Mar 10.
- <sup>36</sup> Faisal Ahmed S, Achermann JC, Arlt W, Balen A, Conway G, Edwards Z, Elford S, Hughes IA, Izatt L, Krone N, Miles H, O'Toole S, Perry L, Sanders C, Simmonds M, Michael Wallace A, Watt A, Willis D. UK Guidance On The Initial Evaluation Of An Infant Or An Adolescent With A Suspected Disorder Of Sex Development. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Apr 16. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04076.x. [Epub ahead of print]
- <sup>37</sup> Zuccarello D, Ferlin A, Vinanzi C, Prana E, Garolla A, Callewaert L, Claessens F, Brinkmann AO, Foresta C. Detailed functional studies on androgen receptor mild mutations demonstrate their association with male infertility. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Apr;68(4):580-8. Epub 2007 Oct 29.
- <sup>38</sup> Wang RS, Yeh S, Tzeng CR, Chang C. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility: lessons from testicular cell-specific androgen receptor knockout mice. *Endocr Rev*. 2009 Apr;30(2):119-32. doi: 10.1210/er.2008-0025. Epub 2009 Jan 27. Review.
- <sup>39</sup> Finsterer J. Bulbar and spinal muscular atrophy (Kennedy's disease): a review. *Eur J Neurol*. 2009 May;16(5):556-61. Review.
- <sup>40</sup> Holterhus PM, Deppe U, Werner R, Richter-Unruh A, Bebermeier JH, Wunsch L, Krege S, Schweikert HU, Demeter J, Riepe F, Hiort O, Brooks JD. Intrinsic androgen-dependent gene expression patterns revealed by comparison of genital fibroblasts from normal males and

---

individuals with complete and partial androgen insensitivity syndrome. *BMC Genomics*. 2007 Oct 18;8:376.

<sup>41</sup> Tadokoro R, Bunch T, Schwabe JW, Hughes IA, Murphy JC. Comparison of the molecular consequences of different mutations at residue 754 and 690 of the androgen receptor (AR) and androgen insensitivity syndrome (AIS) phenotype. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 Aug;71(2):253-60. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03462.x. Epub 2008 Oct 26.

<sup>42</sup> Evans BA, Hughes IA, Bevan CL, Patterson MN, Gregory JW. Phenotypic diversity in siblings with partial androgen insensitivity syndrome. *Arch Dis Child*. 1997 Jun;76(6):529-31.

<sup>43</sup> Gottlieb B, Beitel LK, Nadarajah A, Paliouras M, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. *Hum Mutat*. 2012 May;33(5):887-94. doi: 10.1002/humu.22046. Epub 2012 Mar 13.

<sup>44</sup> Houk CP, Lee PA. Update on disorders of sex development. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Feb;19(1):28-32. doi: 10.1097/MED.0b013e32834edacb.

<sup>45</sup> Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA; International Consensus Conference on Intersex organized by the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. *Pediatrics*. 2006 Aug;118(2):e488-500.

<sup>46</sup> Looijenga LH, Hersmus R, de Leeuw BH, Stoop H, Cools M, Oosterhuis JW, Drop SL, Wolffebuttel KP. Gonadal tumours and DSD. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;24(2):291-310. doi: 10.1016/j.beem.2009.10.002.

<sup>47</sup> Illig R, DeCampo C, Lang-Muritano MR, Prader A, Torresani T, Werder EA, Willi U, Schenkel L. A physiological mode of puberty induction in hypogonadal girls by low dose transdermal 17 beta-oestradiol. *Eur J Pediatr*. 1990 Dec;150(2):86-91.

<sup>48</sup> Danilovic DL, Correa PH, Costa EM, Melo KF, Mendonca BB, Arnhold IJ. Height and bone mineral density in androgen insensitivity syndrome with mutations in the androgen receptor gene. *Osteoporos Int*. 2007 Mar;18(3):369-74. Epub 2006 Nov 1.

<sup>49</sup> Bertelloni S, Baroncelli GI, Mora S. Bone health in disorders of sex differentiation. *Sex Dev*. 2010 Sep;4(4-5):270-84. doi: 10.1159/000315961. Epub 2010 Sep 4.

<sup>50</sup> Rutgers JL, Scully RE. The androgen insensitivity syndrome (testicular feminization): a clinicopathologic study of 43 cases. *Int J Gynecol Pathol*. 1991;10(2):126-44.

<sup>51</sup> Deans R, Creighton SM, Liao LM, Conway GS. Timing of gonadectomy in adult women with complete androgen insensitivity syndrome (CAIS): patient preferences and clinical evidence. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012 Jun;76(6):894-8. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04330.x.

<sup>52</sup> Looijenga LH, Hersmus R, de Leeuw BH, Stoop H, Cools M, Oosterhuis JW, Drop SL, Wolffebuttel KP. Gonadal tumours and DSD. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;24(2):291-310. doi: 10.1016/j.beem.2009.10.002.

- 
- <sup>53</sup> Purves JT, Miles-Thomas J, Migeon C, Gearhart JP. Complete androgen insensitivity: the role of the surgeon. *J Urol*. 2008 Oct;180(4 Suppl):1716-9. doi: 10.1016/j.juro.2008.03.110. Epub 2008 Aug 20.
- <sup>54</sup> Crouch NS, Michala L, Creighton SM, Conway GS. Androgen-dependent measurements of female genitalia in women with complete androgen insensitivity syndrome. *BJOG*. 2011 Jan;118(1):84-7. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02778.x.
- <sup>55</sup> Pasterski V, Prentice P, Hughes IA. Impact of the consensus statement and the new DSD classification system. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;24(2):187-95. doi: 10.1016/j.beem.2009.11.004.
- <sup>56</sup> Slijper FM, Frets PG, Boehmer AL, Drop SL, Niermeijer MF. Androgen insensitivity syndrome (AIS): emotional reactions of parents and adult patients to the clinical diagnosis of AIS and its confirmation by androgen receptor gene mutation analysis. *Horm Res*. 2000;53(1):9-15.
- <sup>57</sup> Liao LM, Green H, Creighton SM, Crouch NS, Conway GS. Service users' experiences of obtaining and giving information about disorders of sex development. *BJOG*. 2010 Jan;117(2):193-9. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02385.x.
- <sup>58</sup> Cohen-Kettenis PT. Psychosocial and psychosexual aspects of disorders of sex development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;24(2):325-34. doi: 10.1016/j.beem.2009.11.005.
- <sup>59</sup> Hughes IA. Early management and gender assignment in disorders of sexual differentiation. *Endocr Dev*. 2007;11:47-57.
- <sup>60</sup> Poujol N, Lobaccaro JM, Chiche L, Lumbroso S, Sultan C. Functional and structural analysis of R607Q and R608K androgen receptor substitutions associated with male breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 1997 Jun 20;130(1-2):43-51.
- <sup>61</sup> Cools M, Drop SL, Wolffenbuttel KP, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers. *Endocr Rev*. 2006 Aug;27(5):468-84. Epub 2006 May 30.
- <sup>62</sup> Bouvattier C, Mignot B, Lefèvre H, Morel Y, Bougnères P. Impaired sexual activity in male adults with partial androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Sep;91(9):3310-5. Epub 2006 Jun 6.
- <sup>63</sup> SWYER GI. Male pseudohermaphroditism: a hitherto undescribed form. *Br Med J*. 1955 Sep 17;2(4941):709-12.
- <sup>64</sup> Stoppa-Vaucher S, Ayabe T, Paquette J, Patey N, Francoeur D, Vuissoz JM, Deladoëy J, Samuels ME, Ogata T, Deal CL. 46, XY gonadal dysgenesis: new SRY point mutation in two siblings with paternal germ line mosaicism. *Clin Genet*. 2012 Dec;82(6):505-13. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01832.x. Epub 2012 Jan 30.

- 
- <sup>65</sup> McElreavey K, Fellous M. Sex determination and the Y chromosome. *Am J Med Genet.* 1999 Dec 29;89(4):176-85.
- <sup>66</sup> Quintana-Murci L, Fellous M. The Human Y Chromosome: The Biological Role of a "Functional Wasteland". *J Biomed Biotechnol.* 2001;1(1):18-24.
- <sup>67</sup> Preusser S, Diener PA, l'Allemand-Jander D, Schmid S, Leippold T, Brändle M, Schmid HP. Scrotal hysterectomy in a male patient with mixed gonadal dysgenesis 46,XY(75%)/45,X(25%). *Urology.* 2007 Dec;70(6):1223.e7-9.
- <sup>68</sup> Linden MG, Bender BG, Robinson A. Genetic counseling for sex chromosome abnormalities. *Am J Med Genet.* 2002 Jun 1;110(1):3-10.
- <sup>69</sup> Michala L, Goswami D, Creighton SM, Conway GS. Swyer syndrome: presentation and outcomes. *BJOG.* 2008 May;115(6):737-41. doi: 10.1111/j.1471-0528.2008.01703.x.
- <sup>70</sup> McPhaul MJ. Androgen receptor mutations and androgen insensitivity. *Mol Cell Endocrinol.* 2002 Dec 30;198(1-2):61-7.
- <sup>71</sup> Ogata T, Matsuo N. The Y specific growth gene(s): how does it promote stature? *J Med Genet.* 1997 Apr;34(4):323-5.
- <sup>72</sup> Jorgensen PB, Kjartansdóttir KR, Fedder J. Care of women with XY karyotype: a clinical practice guideline. *Fertil Steril.* 2010 Jun;94(1):105-13. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.087. Epub 2009 Apr 9.
- <sup>73</sup> Chen MJ, Yang JH, Mao TL, Ho HN, Yang YS. Successful pregnancy in a gonadectomized woman with 46,XY gonadal dysgenesis and gonadoblastoma. *Fertil Steril.* 2005 Jul;84(1):217.
- <sup>74</sup> Zielińska D, Zajaczek S, Rzepka-Górska I. Tumors of dysgenetic gonads in Swyer syndrome. *J Pediatr Surg.* 2007 Oct;42(10):1721-4.
- <sup>75</sup> Cools M, Stoop H, Kersemaekers AM, Drop SL, Wolffenbuttel KP, Bourguignon JP, Slowikowska-Hilczer J, Kula K, Faradz SM, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Gonadoblastoma arising in undifferentiated gonadal tissue within dysgenetic gonads. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Jun;91(6):2404-13. Epub 2006 Apr 11.
- <sup>76</sup> Dumić M, Jukić S, Batinica S, Ille J, Filipović-Grcić B. Bilateral gonadoblastoma in a 9-month-old infant with 46,XY gonadal dysgenesis. *J Endocrinol Invest.* 1993 Apr;16(4):291-3.
- <sup>77</sup> Bremer GL, Land JA, Tiebosch A, van der Putten HW. Five different histological subtypes of germ cell malignancies in an XY female. *Gynecol Oncol.* 1993 Aug;50(2):247-8.
- <sup>78</sup> Troche V, Hernandez E. Neoplasia arising in dysgenetic gonads. *Obstet Gynecol Surv.* 1986 Feb;41(2):74-9.
- <sup>79</sup> Berg FD, Kürzl R, Hinrichsen MJ, Zander J. Familial 46,XY pure gonadal dysgenesis and gonadoblastoma / dysgerminoma: case report. *Gynecol Oncol.* 1989 Feb;32(2):261-7.

- 
- <sup>80</sup> Sarafoglou K, Ostrer H. Clinical review 111: familial sex reversal: a review. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Feb;85(2):483-93.
- <sup>81</sup> Johannsen TH, Ripa CP, Mortensen EL, Main KM. Quality of life in 70 women with disorders of sex development. *Eur J Endocrinol.* 2006 Dec;155(6):877-85.
- <sup>82</sup> Skuse DH, James RS, Bishop DV, Coppin B, Dalton P, Aamodt-Leeper G, Bacarese-Hamilton M, Creswell C, McGurk R, Jacobs PA. Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature.* 1997 Jun 12;387(6634):705-8.
- <sup>83</sup> Creatsas G, Deligeoroglou E, Tsimaris P, Pantos K, KREATSA M. Successful pregnancy in a Swyer syndrome patient with preexisting hypertension. *Fertil Steril.* 2011 Aug;96(2):e83-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.05.061.
- <sup>84</sup> Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115-26.
- <sup>85</sup> Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell.* 2001 Feb 23;104(4):503-16.
- <sup>86</sup> Ford I, Murray H, Packard CJ, Shepherd J, Macfarlane PW, Cobbe SM; West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Long-term follow-up of the West of Scotland Coronary Prevention Study. *N Engl J Med.* 2007 Oct 11;357(15):1477-86.
- <sup>87</sup> Lloyd-Jones D.M., Larson M.G., Beiser A., Levy D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet* 1999;353:89-92.
- <sup>88</sup> Maxwell SR. Women and heart disease. *Basic Res Cardiol* 1998;93(Suppl 2):79–84.
- <sup>89</sup> Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, Gordon T. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *Ann Intern Med* 1976;85:447–452
- <sup>90</sup> McKinlay SM, Bifano NL, McKinlay JB. Smoking and age at menopause in women. *Ann Intern Med* 1985;103:350–356.
- <sup>91</sup> Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *J Am Med Assoc* 1991;265:1861–1867.
- <sup>92</sup> Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1987;316:1105–1110.
- <sup>93</sup> Hu FB, Grodstein F, Hennekens CH, Colditz GA, Johnson M, Manson JE, Rosner B, Stampfer MJ. Age at natural menopause and risk of cardiovascular disease. *Arch Intern Med.* 1999 May 24;159(10):1061-6.
- <sup>94</sup> Jacobsen BK, Nilssen S, Heuch I, Kvale G. Does age at natural menopause affect mortality from ischemic heart disease? *J Clin Epidemiol* 1997;50:475–479.



- 
- <sup>95</sup> Joakimsen O, Bonna KH, Stensland-Bugge E, Jacobsen BK. Population-based study of age at menopause and ultrasound assessed carotid atherosclerosis: The Tromso Study. *J Clin Epidemiol* 2000;53:525–530.
- <sup>96</sup> Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B, Ernster VL, Cummings SR. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med*. 1992 Dec 15;117(12):1016-37.
- <sup>97</sup> Barrett-Connor E, Grady D. Hormone replacement therapy, heart disease, and other considerations. *Annu Rev Public Health* 1998;19:55–72.
- <sup>98</sup> Grodstein F, Manson JE, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. A prospective, observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 2000;133:933–941.
- <sup>99</sup> Petitti DB. Coronary heart disease and estrogen replacement therapy. Can compliance bias explain the results of observational studies? *Ann Epidemiol* 1994;4:115–118.
- <sup>100</sup> Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA*. 1998;280:605–13.
- <sup>101</sup> Viscoli CM, Brass LM, Kernan WN, Sarrel PM, Suissa S, Horwitz RI. A clinical trial of estrogen-replacement therapy after ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2001; 345:1243–9.
- <sup>102</sup> Clarke SC, Kelleher J, Lloyd-Jones H, Slack M, Schofiel PM. A study of hormone replacement therapy in postmenopausal women with ischaemic heart disease: the Papworth HRT atherosclerosis study. *BJOG*. 2002; 109:1056–62.
- <sup>103</sup> Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, Sharp PC, Shumaker SA, Snyder TE, Furberg CD, Kowalchuk GJ, Stuckey TD, Rogers WJ, Givens DH, Waters D. Effects of estrogen replacement on the progression of coronary-artery atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2000; 343:522–9.
- <sup>104</sup> Hodis HN, Mack WJ, Azen SP, Lobo RA, Shoupe D, Mahrer PR, Faxon DP, Cashin-Hemphill L, Sanmarco ME, French WJ, Shook TL, Gaarder TD, Mehra AO, Rabbani R, Sevanian A, Shil AB, Torres M, Vogelbach KH, Selzer RH. Hormone therapy and the progression of coronary-artery atherosclerosis in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2003; 349:535–45.
- <sup>105</sup> Alexander RW & Dzau VJ. Vascular biology: the past 50 years. *Circulation* 2000; 102:IV112–116.
- <sup>106</sup> Soloff MS, Szego CM. Purification of estradiol receptor from rat uterus and blockade of its estrogen-binding function by specific antibody. *Biochem Biophys Res Commun*. 1969 Jan 6;34(1):141-7

- 
- <sup>107</sup> Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Jun 11;93(12):5925-30.
- <sup>108</sup> Cano A, Hermenegildo C. Modulation of the oestrogen receptor: a process with distinct susceptible steps. *Hum Reprod Update*. 2000 May-Jun;6(3):207-11.
- <sup>109</sup> Beato M, Herrlich P, Schütz G. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. *Cell*. 1995 Dec 15;83(6):851-7.
- <sup>110</sup> Murphy E. Estrogen signaling and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2011 Sep 2;109(6):687-96. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.236687.
- <sup>111</sup> Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation*. 1994 May;89(5):1943-50.
- <sup>112</sup> Kim-Schulze S, McGowan KA, Hubchak SC, Cid MC, Martin MB, Kleinman HK, Greene GL, Schnaper HW. Expression of an estrogen receptor by human coronary artery and umbilical vein endothelial cells. *Circulation*. 1996 Sep 15;94(6):1402-7.
- <sup>113</sup> Venkov CD, Rankin AB, Vaughan DE. Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells. A potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation*. 1996 Aug 15;94(4):727-33
- <sup>114</sup> Register TC, Adams MR. Coronary artery and cultured aortic smooth muscle cells express mRNA for both the classical estrogen receptor and the newly described estrogen receptor beta. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1998 Feb;64(3-4):187-91.
- <sup>115</sup> Toth B, Scholz C, Saadat G, Geller A, Schulze S, Mylonas I, Friese K, Jeschke U. Estrogen receptor modulators and estrogen receptor beta immunolabelling in human umbilical vein endothelial cells. *Acta Histochem*. 2009;111(6):508-19. doi: 10.1016/j.acthis.2008.05.006. Epub 2008 Nov 11.
- <sup>116</sup> Wagner AH, Schroeter MR, Hecker M. 17beta-estradiol inhibition of NADPH oxidase expression in human endothelial cells. *FASEB J*. 2001 Oct;15(12):2121-30.
- <sup>117</sup> Sobrino A, Mata M, Laguna-Fernandez A, Novella S, Oviedo PJ, García-Pérez MA, Tarín JJ, Cano A, Hermenegildo C. Estradiol stimulates vasodilatory and metabolic pathways in cultured human endothelial cells. *PLoS One*. 2009 Dec 14;4(12):e8242. doi: 10.1371/journal.pone.0008242.
- <sup>118</sup> Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kanda Y, Nishio Y, Adachi K, Tasaka K, Miyoshi E, Fujiwara N, Taniguchi N, Murata Y. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001 Feb 2;276(5):3459-67. Epub 2000 Oct 23.
- <sup>119</sup> Takada Y, Kato C, Kondo S, Korenaga R, Ando J. Cloning of cDNAs encoding G protein-coupled receptor expressed in human endothelial cells exposed to fluid shear stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Nov 26;240(3):737-41.

- 
- <sup>120</sup> Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to Receptors and Channels (GRAC), 3rd edition. *Br J Pharmacol*. 2008 Mar;153 Suppl 2:S1-209. doi: 10.1038/sj.bjp.0707746.
- <sup>121</sup> Haas E, Meyer MR, Schurr U, Bhattacharya I, Minotti R, Nguyen HH, Heigl A, Lachat M, Genoni M, Barton M. Differential effects of 17beta-estradiol on function and expression of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta, and GPR30 in arteries and veins of patients with atherosclerosis. *Hypertension*. 2007 Jun;49(6):1358-63. Epub 2007 Apr 23.
- <sup>122</sup> Deschamps AM, Murphy E. Activation of a novel estrogen receptor, GPER, is cardioprotective in male and female rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009 Nov;297(5):H1806-13. doi: 10.1152/ajpheart.00283.2009. Epub 2009 Aug 28.
- <sup>123</sup> Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Aug 16;7(12):715-26. doi: 10.1038/nrendo.2011.122.
- <sup>124</sup> Hermenegildo C, García-Martínez MC, Tarín JJ, Cano A. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by the pure antiestrogens ICI 182780 and EM-652 (SCH 57068). *Menopause*. 2002 Nov-Dec;9(6):430-5.
- <sup>125</sup> Pérez-López FR1, Larrad-Mur L, Kallen A, Chedraui P, Taylor HS. Gender differences in cardiovascular disease: hormonal and biochemical influences. *Reprod Sci*. 2010 Jun;17(6):511-31. doi: 10.1177/1933719110367829.
- <sup>126</sup> Kim AM, Tinggen CM, Woodruff TK. Sex bias in trials and treatment must end. *Nature*. 2010 Jun 10;465(7299):688-9. doi: 10.1038/465688a.
- <sup>127</sup> Magkos F1, Wang X, Mittendorfer B. Metabolic actions of insulin in men and women. *Nutrition*. 2010 Jul-Aug;26(7-8):686-93. doi: 10.1016/j.nut.2009.10.013. Epub 2010 Apr 14.
- <sup>128</sup> Dudzinski DM, Michel T. Life history of eNOS: partners and pathways. *Cardiovasc Res*. 2007 Jul 15;75(2):247-60. Epub 2007 Apr 3.
- <sup>129</sup> Lamas S, Lowenstein CJ, Michel T. Nitric oxide signaling comes of age: 20 years and thriving. *Cardiovasc Res*. 2007 Jul 15;75(2):207-9. Epub 2007 Jun 2.
- <sup>130</sup> Michel T, Vanhoutte PM. Cellular signaling and NO production. *Pflugers Arch*. 2010 May;459(6):807-16. doi: 10.1007/s00424-009-0765-9. Epub 2010 Jan 16.
- <sup>131</sup> Thompson LP, Pinkas G & Weiner CP. Chronic 17beta-estradiol replacement increases nitric oxide-mediated vasodilation of guinea pig coronary microcirculation. *Circulation* 2000 102 445-451.
- <sup>132</sup> Goetz RM, Thatte HS, Prabhakar P, Cho MR, Michel T & Golan DE. Estradiol induces the calcium-dependent translocation of endothelial nitric oxide synthase. *PNAS* 1999 96 2788-2793.
- <sup>133</sup> Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kanda Y, Nishio Y, Adachi K, Tasaka K, Miyoshi E, Fujiwara N, Taniguchi N, Murata Y. Estrogen induces the Akt-dependent activation of

---

endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 2001 Feb 2;276(5):3459-67. Epub 2000 Oct 23.

<sup>134</sup> Wassmann S, Bäumer AT, Strehlow K, van Eickels M, Grohé C, Ahlbory K, Rösen R, Böhm M, Nickenig G. Endothelial dysfunction and oxidative stress during estrogen deficiency in spontaneously hypertensive rats. *Circulation.* 2001 Jan 23;103(3):435-41.

<sup>135</sup> Dantas AP, Tostes RC, Fortes ZB, Costa SG, Nigro D, Carvalho MH. In vivo evidence for antioxidant potential of estrogen in microvessels of female spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 2002 Feb;39(2 Pt 2):405-11.

<sup>136</sup> Ospina JA, Krause DN, Duckles SP. 17beta-estradiol increases rat cerebrovascular prostacyclin synthesis by elevating cyclooxygenase-1 and prostacyclin synthase. *Stroke.* 2002 Feb;33(2):600-5.

<sup>137</sup> Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Negre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP et al. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *PNAS* 1996 93 4108–4113.

<sup>138</sup> Barbacanne MA, Rami J, Michel JB, Souchard JP, Philippe M, Besombes JP et al. Estradiol increases rat aorta endothelium-derived relaxing factor (EDRF) activity without changes in endothelial NO synthase gene expression: possible role of decreased endothelium-derived superoxide anion production. *Cardiovascular Research* 1999 41 672–681.

<sup>139</sup> Halliwell B, Grootveld M. The measurement of free radical reactions in humans. Some thoughts for future experimentation. *FEBS Lett.* 1987 Mar 9;213(1):9-14.

<sup>140</sup> Dubey RK, Jackson EK. Estrogen-induced cardiorenal protection: potential cellular, biochemical, and molecular mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001 Mar;280(3):F365-88.

<sup>141</sup> Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Negre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP, Salvayre R, Bayard F. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Apr 30;93(9):4108-13.

<sup>142</sup> Kim YD, Chen B, Beauregard J, Kouretas P, Thomas G, Farhat MY, Myers AK, Lees DE. 17 beta-Estradiol prevents dysfunction of canine coronary endothelium and myocardium and reperfusion arrhythmias after brief ischemia/reperfusion. *Circulation.* 1996 Dec1;94(11):2901-8.

<sup>143</sup> Capel ID, Jenner M, Williams DC, Donaldson D, Nath A. The effect of prolonged oral contraceptive steroid use on erythrocyte glutathione peroxidase activity. *J Steroid Biochem.* 1981 Aug;14(8):729-32.

<sup>144</sup> Robb EL, Stuart JA. Resveratrol interacts with estrogen receptor- $\beta$  to inhibit cell replicative growth and enhance stress resistance by upregulating mitochondrial superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med.* 2011 Apr 1;50(7):821-31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.038. Epub 2011 Jan 6.

- 
- <sup>145</sup> Sivritas D, Becher MU, Ebrahimian T, Arfa O, Rapp S, Bohner A, Mueller CF, Umemura T, Wassmann S, Nickenig G, Wassmann K. Antiproliferative effect of estrogen in vascular smooth muscle cells is mediated by Kruppel-like factor-4 and manganese superoxide dismutase. *Basic Res Cardiol*. 2011 Jun;106(4):563-75. doi: 10.1007/s00395-011-0174-z. Epub 2011 Apr 12.
- <sup>146</sup> Davidge ST, Zhang Y. Estrogen replacement suppresses a prostaglandin H synthase-dependent vasoconstrictor in rat mesenteric arteries. *Circ Res*. 1998 Aug 24;83(4):388-95.
- <sup>147</sup> Dantas AP, Scivoletto R, Fortes ZB, Nigro D, Carvalho MH. Influence of female sex hormones on endothelium-derived vasoconstrictor prostanoid generation in microvessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1999 Oct;34(4 Pt 2):914-9.
- <sup>148</sup> Novella S, Dantas AP, Segarra G, Novensà L, Bueno C, Heras M, Hermenegildo C, Medina P. Gathering of aging and estrogen withdrawal in vascular dysfunction of senescent accelerated mice. *Exp Gerontol*. 2010 Nov;45(11):868-74. doi: 10.1016/j.exger.2010.07.007. Epub 2010 Aug 12.
- <sup>149</sup> Valverde MA, Rojas P, Amigo J, Cosmelli D, Orio P, Bahamonde MI, Mann GE, Vergara C, Latorre R. Acute activation of Maxi-K channels (hSlo) by estradiol binding to the beta subunit. *Science*. 1999 Sep 17;285(5435):1929-31
- <sup>150</sup> Brosnihan KB, Senanayake PS, Li P, Ferrario CM. Bi-directional actions of estrogen on the renin-angiotensin system. *Braz J Med Biol Res*. 1999 Apr;32(4):373-81.
- <sup>151</sup> Seely EW, Brosnihan KB, Jeunemaitre X, Okamura K, Williams GH, Hollenberg NK, Herrington DM. Effects of conjugated oestrogen and droloxifene on the renin-angiotensin system, blood pressure and renal blood flow in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004 Mar;60(3):315-21.
- <sup>152</sup> Silva-Antonialli MM, Fortes ZB, Carvalho MH, Scivoletto R, Nigro D. Sexual dimorphism in the response of thoracic aorta from SHRs to losartan. *Gen Pharmacol*. 2000 May;34(5):329-35.
- <sup>153</sup> Wu Z, Maric C, Roesch DM, Zheng W, Verbalis JG, Sandberg K. Estrogen regulates adrenal angiotensin AT1 receptors by modulating AT1 receptor translation. *Endocrinology*. 2003 Jul;144(7):3251-61.
- <sup>154</sup> Boissel JP, Collet JP, Moleur P, Haugh M. Surrogate endpoints: a basis for a rational approach. *Eur J Clin Pharmacol* 1992;43: 235-44
- <sup>155</sup> Prentice RL. Surrogate endpoints in clinical trials: definition and operational criteria. *Stat Med* 1989;8:431-40
- <sup>156</sup> Berger VW. Does the Prentice criterion validate surrogate endpoints? *Stat Med* 2004;23:1571-8
- <sup>157</sup> Ip JH, Fuster V, Chesebro JH. Exploration of the atherosclerotic plaque. *Biomed Pharmacother* 1990;44:343-52

- 
- <sup>158</sup> Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *New Engl J Med* 1987;316:1371-5.
- <sup>159</sup> Topol EJ, Nissen SE. Our preoccupation with coronary luminology. The dissociation between clinical and angiographic findings in ischemic heart disease. *Circulation* 1995;92: 2333-42.
- <sup>160</sup> Pearson TA. New tools for coronary risk assessment: what are their advantages and limitations? *Circulation* 2002;105:886-92.
- <sup>161</sup> Fayad ZA, Fuster V. Clinical imaging of the high-risk or vulnerable atherosclerotic plaque. *Circ Res* 2001;89:305-16.
- <sup>162</sup> Abdelfattah A, Allam AH, Wann S, Thompson RC, Abdel-Maksoud G, Badr I, Amer HA, el-Din Ael-H, Finch CE, Miyamoto MI, Sutherland L, Sutherland JD, Thomas GS. Atherosclerotic cardiovascular disease in Egyptian women: 1570 BCE-2011 CE. *Int J Cardiol.* 2013 Jul 31; 167(2):570-4. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.01.082. Epub 2012 Feb 20.
- <sup>163</sup> Heberden W. Commentaries on the history and cure of diseases. London:Mews-Gate; 1802.
- <sup>164</sup> Bittner V. Menopause and cardiovascular risk cause or consequence? *J Am Coll Cardiol.* 2006 May 16;47(10):1984-6.
- <sup>165</sup> Barrett-Connor E. Gender differences and disparities in all-cause and coronary heart disease mortality: epidemiological aspects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2013 Aug;27(4):481-500. doi: 10.1016/j.beem.2013.05.013. Epub 2013 Jul 8. Erratum in: *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2013 Dec;27(6):831.
- <sup>166</sup> Gordon T, Kannel WB, Castelli WP, Dawber TR. Lipoproteins, cardiovascular disease, and death. The Framingham study. *Arch Intern Med.* 1981 Aug;141(9):1128-31.
- <sup>167</sup> Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor defect in familial hypercholesterolemia. Implications for pathogenesis and therapy. *Med Clin North Am.* 1982 Mar;66(2):335-62.
- <sup>168</sup> Rader DJ, deGoma EM. Approach to the patient with extremely low HDL-cholesterol. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Oct;97(10):3399-407. doi: 10.1210/jc.2012-2185.
- <sup>169</sup> Babelova A1, Sedding DG, Brandes RP. Anti-atherosclerotic mechanisms of statin therapy. *Curr Opin Pharmacol.* 2013 Apr;13(2):260-4. doi: 10.1016/j.coph.2013.01.004. Epub 2013 Feb 9.
- <sup>170</sup> Shuto H, Tominaga K, Yamauchi A, Ikeda M, Kusaba K, Mitsunaga D, Hirabara Y, Egawa T, Takano Y, Kataoka Y. The statins fluvastatin and pravastatin exert anti-flushing effects by improving vasomotor dysfunction through nitric oxide-mediated mechanisms in ovariectomized animals. *Eur J Pharmacol.* 2011 Jan 25;651(1-3):234-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.10.084. Epub 2010 Nov 27.
- <sup>171</sup> Kwak BR, Mulhaupt F, Mach F. Atherosclerosis: anti-inflammatory and immunomodulatory activities of statins. *Autoimmun Rev.* 2003 Oct;2(6):332-8.

- 
- <sup>172</sup> Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, Barton M. Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 Sep 24;308(1-2):9-16. doi: 10.1016/j.mce.2009.03.009. Epub 2009 Mar 25
- <sup>173</sup> Miller VM, Duckles SP. Vascular actions of estrogens: functional implications. *Pharmacol Rev*. 2008 Jun;60(2):210-41. doi: 10.1124/pr.107.08002. Epub 2008 Jun 25.
- <sup>174</sup> OLIVER MF, BOYD GS. Effect of bilateral ovariectomy on coronary-artery disease and serum-lipid levels. *Lancet*. 1959 Oct 31;2(7105):690-4.
- <sup>175</sup> Knopp RH, Paramsothy P, Retzlaff BM, Fish B, Walden C, Dowdy A, Tsunehara C, Aikawa K, Cheung MC. Sex differences in lipoprotein metabolism and dietary response: basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Curr Cardiol Rep*. 2006 Nov;8(6):452-9.
- <sup>176</sup> Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, Barton M. Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 Sep 24;308(1-2):9-16. doi: 10.1016/j.mce.2009.03.009. Epub 2009 Mar 25.
- <sup>177</sup> Schmermund A, Erbel R, Silber S; MUNICH Registry Study Group. Multislice Normal Incidence of Coronary Health. Age and gender distribution of coronary artery calcium measured by four-slice computed tomography in 2,030 persons with no symptoms of coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2002 Jul 15;90(2):168-73.
- <sup>178</sup> Emmanuele L, Ortmann J, Doerflinger T, Traupe T, Barton M. Lovastatin stimulates human vascular smooth muscle cell expression of bone morphogenetic protein-2, a potent inhibitor of low-density lipoprotein-stimulated cell growth. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Feb 28;302(1):67-72.
- <sup>179</sup> Choi BG, Vilahur G, Zafar MU, Cardoso L, Yadegar D, Ibanez B, Tunstead J, Viles-Gonzalez JF, Schaffler MB, Fuster V, Badimon JJ. Selective estrogen receptor modulation influences atherosclerotic plaque composition in a rabbit menopause model. *Atherosclerosis*. 2008 Nov;201(1):76-84. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.01.017. Epub 2008 Feb 21.
- <sup>180</sup> McGill HC Jr, McMahan CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP; Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation*. 2002 Jun 11;105(23):2712-8.
- <sup>181</sup> McGill HC Jr, Herderick EE, McMahan CA, Zieske AW, Malcolm GT, Tracy RE, Strong JP. Atherosclerosis in youth. *Minerva Pediatr*. 2002 Oct;54(5):437-47.
- <sup>182</sup> Barton M, Meyer MR, Haas E. Hormone replacement therapy and atherosclerosis in postmenopausal women: does aging limit therapeutic benefits? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Aug;27(8):1669-72.
- <sup>183</sup> Barton M. Childhood obesity: a life-long health risk. *Acta Pharmacol Sin*. 2012 Feb;33(2):189-93. doi: 10.1038/aps.2011.204.

- 
- <sup>184</sup> Kok HS, van Asselt KM, van der Schouw YT, van der Tweel I, Peeters PH, Wilson PW, Pearson PL, Grobbee DE. Heart disease risk determines menopausal age rather than the reverse. *J Am Coll Cardiol*. 2006 May 16;47(10):1976-83. Epub 2006 Apr 24.
- <sup>185</sup> Anichkov NN, Chalator S. Uber die experimentelle Cholesterinsteatose und ihre Bedeutung fur die Entstehung einiger pathologischer Prozesse. *Zentrbl Allg Pathol Pathol Anat* 1913; 24:1-9.
- <sup>186</sup> Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, Farb A. Vulnerable plaque: the pathology of unstable coronary lesions. *J Interv Cardiol*. 2002 Dec;15(6):439-46.
- <sup>187</sup> Burke AP, Farb A, Malcom G, Virmani R. Effect of menopause on plaque morphologic characteristics in coronary atherosclerosis. *Am Heart J*. 2001 Feb;141(2 Suppl):S58-62.
- <sup>188</sup> Kolodgie FD, Jacob A, Wilson PS, Carlson GC, Farb A, Verma A, Virmani R. Estradiol attenuates directed migration of vascular smooth muscle cells in vitro. *Am J Pathol*. 1996 Mar;148(3):969-76.
- <sup>189</sup> Meyer MR, Barton M. ERalpha, ERbeta, and gpER: novel aspects of oestrogen receptor signalling in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2009 Sep 1;83(4):605-10. doi: 10.1093/cvr/cvp187. Epub 2009 Jun 18.
- <sup>190</sup> Hodgins JB, Krege JH, Reddick RL, Korach KS, Smithies O, Maeda N. Estrogen receptor alpha is a major mediator of 17beta-estradiol's atheroprotective effects on lesion size in Apoe<sup>-/-</sup> mice. *J Clin Invest*. 2001 Feb;107(3):333-40.
- <sup>191</sup> Villablanca AC, Tenwolde A, Lee M, Huck M, Mumenthaler S, Rutledge JC. 17beta-estradiol prevents early-stage atherosclerosis in estrogen receptor-alpha deficient female mice. *J Cardiovasc Transl Res*. 2009 Sep;2(3):289-99. doi: 10.1007/s12265-009-9103-z. Epub 2009 May 2.
- <sup>192</sup> Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Aug 16;7(12):715-26. doi: 10.1038/nrendo.2011.122.
- <sup>193</sup> Mukherjee TK, Dinh H, Chaudhuri G, Nathan L. Testosterone attenuates expression of vascular cell adhesion molecule-1 by conversion to estradiol by aromatase in endothelial cells: implications in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Mar 19;99(6):4055-60.
- <sup>194</sup> Meyer MR, Haas E, Barton M. Need for research on estrogen receptor function: importance for postmenopausal hormone therapy and atherosclerosis. *Gend Med*. 2008;5 Suppl A:S19-33. doi: 10.1016/j.genm.2008.03.004.
- <sup>195</sup> Sugioka K, Shimosegawa Y, Nakano M. Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation. *FEBS Lett*. 1987 Jan 1;210(1):37-9.
- <sup>196</sup> Colvin PL Jr. Estrogen increases low-density lipoprotein receptor-independent catabolism of apolipoprotein B in hyperlipidemic rabbits. *Metabolism*. 1996 Jul;45(7):889-96.



- 
- <sup>197</sup> Sulistiyani, St Clair RW. Effect of 17 beta-estradiol on metabolism of acetylated low-density lipoprotein by THP-1 macrophages in culture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Sep;17(9):1691-700.
- <sup>198</sup> Nofer JR. Estrogens and atherosclerosis: insights from animal models and cell systems. *J Mol Endocrinol.* 2012 Mar 12;48(2):R13-29. doi: 10.1530/JME-11-0145. Print 2012 Apr.
- <sup>199</sup> Walsh BW<sup>1</sup>, Li H, Sacks FM. Effects of postmenopausal hormone replacement with oral and transdermal estrogen on high density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res.* 1994 Nov;35(11):2083-93.
- <sup>200</sup> Srivastava RA. Estrogen-induced regulation of the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) in mice: a possible mechanism of atheroprotection by estrogen. *Mol Cell Biochem.* 2002 Nov;240(1-2):67-73.
- <sup>201</sup> Stangl H<sup>1</sup>, Graf GA, Yu L, Cao G, Wyne K. Effect of estrogen on scavenger receptor BI expression in the rat. *J Endocrinol.* 2002 Dec;175(3):663-72.
- <sup>202</sup> Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Brosnihan KB, Meyers DA, Bleecker ER. Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. *N Engl J Med.* 2002 Mar 28;346(13):967-74.
- <sup>203</sup> Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, Shih DM, Chroni A, Yonekawa K, Stein S, Schaefer N, Mueller M, Akhmedov A, Daniil G, Manes C, Templin C, Wyss C, Maier W, Tanner FC, Matter CM, Corti R, Furlong C, Lusic AJ, von Eckardstein A, Fogelman AM, Lüscher TF, Landmesser U. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J Clin Invest.* 2011 Jul;121(7):2693-708. doi: 10.1172/JCI42946. Epub 2011 Jun 23.
- <sup>204</sup> Wolff EF, He Y, Black DM, Brinton EA, Budoff MJ, Cedars MI, Hodis HN, Lobo RA, Manson JE, Merriam GR, Miller VM, Naftolin F, Pal L, Santoro N, Zhang H, Harman SM, Taylor HS. Self-reported menopausal symptoms, coronary artery calcification, and carotid intima-media thickness in recently menopausal women screened for the Kronos early estrogen prevention study (KEEPS). *Fertil Steril.* 2013 Apr;99(5):1385-91. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.053. Epub 2013 Jan 8.
- <sup>205</sup> Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, Sharp PC, Shumaker SA, Snyder TE, Furberg CD, Kowalchuk GJ, Stuckey TD, Rogers WJ, Givens DH, Waters D. Effects of estrogen replacement on the progression of coronary-artery atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2000 Aug 24;343(8):522-9.
- <sup>206</sup> Hodis HN, Mack WJ, Azen SP, Lobo RA, Shoupe D, Mahrer PR, Faxon DP, Cashin-Hemphill L, Sanmarco ME, French WJ, Shook TL, Gaarder TD, Mehra AO, Rabbani R, Sevanian A, Shil AB, Torres M, Vogelbach KH, Selzer RH; Women's Estrogen-Progestin Lipid-Lowering Hormone Atherosclerosis Regression Trial Research Group. Hormone therapy and the progression of

---

coronary-artery atherosclerosis in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 2003 Aug 7;349(6):535-45.

<sup>207</sup> Manson JE, Allison MA, Rossouw JE, Carr JJ, Langer RD, Hsia J, Kuller LH, Cochrane BB, Hunt JR, Ludlam SE, Pettinger MB, Gass M, Margolis KL, Nathan L, Ockene JK, Prentice RL, Robbins J, Stefanick ML; WHI and WHI-CACS Investigators. Estrogen therapy and coronary-artery calcification. *N Engl J Med.* 2007 Jun 21;356(25):2591-602.

<sup>208</sup> Schierbeck LL, Rejnmark L, Tofteng CL, Stilgren L, Eiken P, Mosekilde L, Køber L, Jensen JE. Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular events in recently postmenopausal women: randomised trial. *BMJ.* 2012 Oct 9;345:e6409. doi: 10.1136/bmj.e6409.

<sup>209</sup> Ensrud K, LaCroix A, Thompson JR, Thompson DD, Eastell R, Reid DM, Vukicevic S, Cauley J, Barrett-Connor E, Armstrong R, Welty F, Cummings S. Lasofoxifene and cardiovascular events in postmenopausal women with osteoporosis: Five-year results from the Postmenopausal Evaluation and Risk Reduction with Lasofoxifene (PEARL) trial. *Circulation.* 2010 Oct 26;122(17):1716-24. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.924571. Epub 2010 Oct 11.

<sup>210</sup> Gotto AM Jr, Moon JE. Management of cardiovascular risk: the importance of meeting lipid targets. *Am J Cardiol.* 2012 Jul 1;110(1 Suppl):3A-14A. doi: 10.1016/j.amjcard.2012.04.002.

<sup>211</sup> Wallez Y, Vilgrain I, Huber P. Angiogenesis: the VE-cadherin switch. *Trends Cardiovasc Med.* 2006 Feb;16(2):55-9.

<sup>212</sup> Angelini DJ, Hyun SW, Grigoryev DN, Garg P, Gong P, Singh IS, Passaniti A, Hasday JD, Goldblum SE. TNF-alpha increases tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and opens the paracellular pathway through fyn activation in human lung endothelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006 Dec;291(6):L1232-45. Epub 2006 Aug 4.

<sup>213</sup> Shasby DM, Ries DR, Shasby SS, Winter MC. Histamine stimulates phosphorylation of adherens junction proteins and alters their link to vimentin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: L1330-8.

<sup>214</sup> Hermant B, Bibert S, Concord E, Dublet B, Weidenhaupt M, Vernet T, Gulino-Debrac D. Identification of proteases involved in the proteolysis of vascular endothelium cadherin during neutrophil transmigration. *J Biol Chem.* 2003 Apr 18;278(16):14002-12. Epub 2003 Feb 12.

<sup>215</sup> Hudry-Clergeon H1, Stengel D, Ninio E, Vilgrain I. Platelet-activating factor increases VE-cadherin tyrosine phosphorylation in mouse endothelial cells and its association with the PtdIns3'-kinase. *FASEB J.* 2005 Apr;19(6):512-20.

<sup>216</sup> Friedl J, Puhlmann M, Bartlett DL, Libutti SK, Turner EN, Gnant MF, Alexander HR. Induction of permeability across endothelial cell monolayers by tumor necrosis factor (TNF) occurs via a tissue factor-dependent mechanism: relationship between the procoagulant and permeability effects of TNF. *Blood.* 2002 Aug 15;100(4):1334-9.

- 
- <sup>217</sup> Chen T, Guo ZP, Cao N, Qin S, Li MM, Jia RZ. Increased serum levels of soluble vascular endothelial-cadherin in patients with systemic vasculitis. *Rheumatol Int.* 2014 Jan 28. [Epub ahead of print]
- <sup>218</sup> Breier G, Grosser M, Rezaei M. Endothelial cadherins in cancer. *Cell Tissue Res.* 2014 Mar 12. [Epub ahead of print]
- <sup>219</sup> Bobryshev YV, Cherian SM, Inder SJ, Lord RS. Neovascular expression of VE-cadherin in human atherosclerotic arteries and its relation to intimal inflammation. *Cardiovasc Res.* 1999 Sep;43(4):1003-17.
- <sup>220</sup> Sigala F, Vourliotakis G, Georgopoulos S, Kavantzias N, Papalambros E, Agapitos M, Bastounis E. Vascular endothelial cadherin expression in human carotid atherosclerotic plaque and its relationship with plaque morphology and clinical data. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003 Nov;26(5):523-8.
- <sup>221</sup> Soeki T, Tamura Y, Shinohara H, Sakabe K, Onose Y, Fukuda N. Elevated concentration of soluble vascular endothelial cadherin is associated with coronary atherosclerosis. *Circ J.* 2004 Jan;68(1):1-5.
- <sup>222</sup> Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, Kangave D, Abouammoh M, Mohammad G. High-mobility group box-1 and endothelial cell angiogenic markers in the vitreous from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:697489. doi: 10.1155/2012/697489. Epub 2012 Oct 16.
- <sup>223</sup> Christodoulakos G, Lambrinouadaki I, Panoulis C, Papadias C, Economou E, Creatsas G. Effect of hormone therapy and raloxifene on serum VE-cadherin in postmenopausal women. *Fertil Steril.* 2004 Sep;82(3):634-8.
- <sup>224</sup> Kansas GS. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood.* 1996 Nov 1;88(9):3259-87.
- <sup>225</sup> Eppihimer MJ, Wolitzky B, Anderson DC, Labow MA, Granger DN. Heterogeneity of expression of E- and P-selectins in vivo. *Circ Res.* 1996 Sep;79(3):560-9.
- <sup>226</sup> Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 1999;79:181–213.
- <sup>227</sup> Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, Gearing AJ. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;187:584– 9.
- <sup>228</sup> Jilma B, Dirnberger E, Eichler HG, Kapiotis S. Sex differences in circulating P-selectin, E-selectin and thrombomodulin. *Br J Haematol* 1996;95:575– 6.

- 
- <sup>229</sup> Blann AD, Davis A, Miller JP, McCollum CN. von Willebrand factor and soluble E-selectin in hyperlipidaemia: relationship to lipids and vascular disease. *Am J Hematol* 1997;55:15–23.
- <sup>230</sup> Blann AD, Amiral J, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leucocyte adhesion molecules in ischaemic heart disease. *Br J Haematol* 1996;95:263–5.
- <sup>231</sup> Mulvihill NT, Foley JB, Murphy R, Crean P, Walsh M. Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1210–6.
- <sup>232</sup> Miwa K, Igawa A, Inoue H. Soluble E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 levels in systemic and coronary circulation in patients with variant angina. *Cardiovasc Res* 1997;36:37–44.
- <sup>233</sup> Suefuji H, Ogawa H, Yasue H, Sakamoto T, Miyao Y, Kaikita K, Soejima H, Misumi K, Miyamoto S, Kataoka K. Increased plasma level of soluble E-selectin in acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 2000 Aug;140(2):243-8.
- <sup>234</sup> Ghaisas NK, Shahi CN, Foley B, Goggins M, Crean P, Kelly A, Kelleher D, Walsh M. Elevated levels of circulating soluble adhesion molecules in peripheral blood of patients with unstable angina. *Am J Cardiol*. 1997 Sep 1;80(5):617-9.
- <sup>235</sup> Atalar E, Aytemir K, Haznedaroğlu I, Ozer N, Ovünç K, Aksöyek S, Kes S, Kirazli S, Ozmen F. Increased plasma levels of soluble selectins in patients with unstable angina. *Int J Cardiol*. 2001 Mar;78(1):69-73.
- <sup>236</sup> Shyu KG, Chang H, Lin CC, Kuan P. Circulating intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients with acute coronary syndrome. *Chest* 1996;109:1627–30.
- <sup>237</sup> Parker C III, Vita JA, Freedman JE. Soluble adhesion molecules and unstable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2001;156:417–24.
- <sup>238</sup> Atalar E, Haznedaroğlu Y, Aytemir K, Ozer N, Aksöyek S, Ovünç K, Kirazly S, Ozmen F. Circulating adhesion molecules in patients with stable coronary artery disease. *Int J Hematol*. 2000 Dec;72(4):507-11.
- <sup>239</sup> Blann AD, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leukocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 1994; 72:151–4.
- <sup>240</sup> Mizia-Stec K, Zahorska-Markiewicz B, Mandrecki T, Janowska J, Szulc A, Jastrzebska-Maj E. Serum levels of selected adhesion molecules in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2002;83:143–50.
- <sup>241</sup> Nasuno A, Matsubara T, Hori T, Higuchi K, Imai S, Nakagawa I, Tsuchida K, Ozaki K, Mezaki T, Tanaka T, Fuse I, Aizawa Y. Levels of soluble E-selectin and ICAM-1 in the coronary circulation of patients with stable coronary artery disease: association with the severity of coronary atherosclerosis. *Jpn Heart J*. 2002 Mar;43(2):93-101.

- 
- <sup>242</sup> Li YH, Teng JK, Tsai WC, Tsai LM, Lin LJ, Chen JH. Elevation of soluble adhesion molecules is associated with the severity of myocardial damage in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1997;80:1218– 21.
- <sup>243</sup> Tenaglia AN, Buda AJ, Wilkins RG, Barron MK, Jeffords PR, Vo K, Jordan MO, Kusnick BA, Lefer DJ. Levels of expression of P-selectin, E-selectin, and intercellular adhesion molecule-1 in coronary atherectomy specimens from patients with stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 1997 Mar 15;79(6):742-7.
- <sup>244</sup> Menown IB, Mathew TP, Gracey HM, Nesbitt GS, Murray P, Young IS, Adgey AA; Prediction of Recurrent Events by D-Dimer and Inflammatory Markers in Patients with Normal Cardiac Troponin I Study. Prediction of Recurrent Events by D-Dimer and Inflammatory Markers in Patients with Normal Cardiac Troponin I (PREDICT) Study. *Am Heart J*. 2003 Jun;145(6):986-92.
- <sup>245</sup> Peter K, Nawroth P, Conradt C, Nordt T, Weiss T, Boehme M, Wunsch A, Allenberg J, Kübler W, Bode C. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Mar;17(3):505-12.
- <sup>246</sup> Seigneur M, Dufourcq P, Conri C, Constans J, Mercié P, Pruvost A, Amiral J, Midy D, Baste JC, Boisseau MR. Levels of plasma thrombomodulin are increased in atheromatous arterial disease. *Thromb Res*. 1993 Sep 15;71(6):423-31.
- <sup>247</sup> Blann AD, Farrell A, Picton A, McCollum CN. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease. *Thromb Res*. 2000 Feb 15;97(4):209-16.
- <sup>248</sup> De Caterina R, Basta G, Lazzerini G, Dell'Omo G, Petrucci R, Morale M, Carmassi F, Pedrinelli R. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Nov;17(11):2646-54.
- <sup>249</sup> Signorelli SS, Mazzarino MC, Di Pino L, Malaponte G, Porto C, Pennisi G, Marchese G, Costa MP, Digrandi D, Celotta G, Virgilio V. High circulating levels of cytokines (IL-6 and TNFalpha), adhesion molecules (VCAM-1 and ICAM-1) and selectins in patients with peripheral arterial disease at rest and after a treadmill test. *Vasc Med*. 2003;8(1):15-9.
- <sup>250</sup> Boulbou MS, Koukoulis GN, Vasiou KG, Petinaki EA, Gourgoulisanis KI, Fezoulidis IB. Increased soluble E-selectin levels in type 2 diabetic patients with peripheral arterial disease. *Int Angiol* 2004; 23:18–24.
- <sup>251</sup> Fassbender K, Bertsch T, Mielke O, Muhlhauser F, Hennerici M. Adhesion molecules in cerebrovascular diseases. Evidence for an inflammatory endothelial activation in cerebral large- and smallvessel disease. *Stroke* 1999;30:1647–50.

- 
- <sup>252</sup> Stone PC, Fisher AC, Rainger GE, Nash GB. Neutrophil capture by selectins on endothelial cells exposed to cigarette smoke. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;295:1150– 5.
- <sup>253</sup> Takei A, Huang Y, Lopes-Virella MF. Expression of adhesion molecules by human endothelial cells exposed to oxidized low density lipoprotein. Influences of degree of oxidation and location of oxidized LDL. *Atherosclerosis* 2001;154:79– 86.
- <sup>254</sup> Colome C, Martinez-Gonzalez J, Vidal F, de Castellarnau C, Badimon L. Small oxidative changes in atherogenic LDL concentrations irreversibly regulate adhesiveness of human endothelial cells: effect of the lazaroid U74500A. *Atherosclerosis* 2000; 149:295– 302.
- <sup>255</sup> Ferri C, Desideri G, Valenti M, Bellini C, Pasin M, Santucci A, De Mattia G. Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. *Hypertension*. 1999 Oct;34(4 Pt 1):568-73.
- <sup>256</sup> Ito H, Ohshima A, Inoue M, Ohto N, Nakasuga K, Kaji Y, Maruyama T, Nishioka K. Weight reduction decreases soluble cellular adhesion molecules in obese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002 May-Jun;29(5-6):399-404.
- <sup>257</sup> Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation*. 1997 Dec 16;96(12):4219-25.
- <sup>258</sup> Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, Lennon L, Thomson A, Haskard D. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet*. 2001 Sep 22;358(9286):971-6.
- <sup>259</sup> Fung TT, McCullough ML, Newby PK, Manson JE, Meigs JB, Rifai N, Willett WC, Hu FB. Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jul;82(1):163-73.
- <sup>260</sup> Blann AD, Tse W, Maxwell SJ, Waite MA. Increased levels of the soluble adhesion molecule E-selectin in essential hypertension. *J Hypertens* 1994;12:925– 8.
- <sup>261</sup> Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens* 2002;16:539– 47.
- <sup>262</sup> Matsumoto K, Miyake S, Yano M, Ueki Y, Tominaga Y. High serum concentrations of soluble E-selectin in patients with impaired glucose tolerance with hyperinsulinemia. *Atherosclerosis* 2000;152: 415–20.

- 
- <sup>263</sup> Gearing AJ, Hemingway I, Pigott R, Hughes J, Rees AJ, Cashman SJ. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM- 1, and VCAM-1: pathological significance. *Ann N Y Acad Sci* 1992;667:324– 31.
- <sup>264</sup> DeSouza CA, Dengel DR, Macko RF, Cox K, Seals DR. Elevated levels of circulating cell adhesion molecules in uncomplicated essential hypertension. *Am J Hypertens* 1997;10:1335– 41.
- <sup>265</sup> Dörffel Y, Franz S, Pruss A, Neumann G, Rohde W, Burmester GR, Scholze J. Preactivated monocytes from hypertensive patients as a factor for atherosclerosis? *Atherosclerosis*. 2001 Jul;157(1):151-60.
- <sup>266</sup> Hlubocká Z, Umnerová V, Heller S, Peleska J, Jindra A, Jáchymová M, Kvasnicka J, Horký K, Aschermann M. Circulating intercellular cell adhesion molecule-1, endothelin-1 and von Willebrand factor-markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension: the effect of treatment with ACE inhibitors. *J Hum Hypertens*. 2002 Aug;16(8):557-62.
- <sup>267</sup> Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Davoli A, De Santis A, Campagnola M, Rigoni A, Zenti MG, Moghetti P, Lo Cascio V. Elevated levels of soluble E-selectin in patients with IDDM and NIDDM: relation to metabolic control. *Diabetologia*. 1995 Sep;38(9):1122-4.
- <sup>268</sup> Fasching P, Waldhausl W, Wagner OF. Elevated circulating adhesion molecules in NIDDM— potential mediators in diabetic macroangiopathy. *Diabetologia* 1996;39:1242– 4.
- <sup>269</sup> Smulders RA, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Donker AJ, van Hinsbergh VW, TeKoppele JM. Distinct associations of HbA1c and the urinary excretion of pentosidine, an advanced glycosylation endproduct, with markers of endothelial function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 1998;80:52–7.
- <sup>270</sup> Steiner M, Reinhardt KM, Krammer B, Ernst B, Blann AD. Increased levels of soluble adhesion molecules in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus are independent of glycaemic control. *Thromb Haemost* 1994;72:979– 84.
- <sup>271</sup> Bannan S, Mansfield MW, Grant PJ. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 and E-selectin levels in relation to vascular risk factors and to E-selectin genotype in the first degree relatives of NIDDM patients and in NIDDM patients. *Diabetologia* 1998; 41:460–6.
- <sup>272</sup> Albertini JP, Valensi P, Lormeau B, Aourousseau MH, Ferrière F, Attali JR, Gattegno L. Elevated concentrations of soluble E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 in NIDDM. Effect of intensive insulin treatment. *Diabetes Care*. 1998 Jun;21(6):1008-13.
- <sup>273</sup> Cominacini L, Garbin U, Fratta Pasini A, Campagnola M, Davoli A, Foot E, Sighieri G, Sironi AM, Lo Cascio V, Ferrannini E. Troglitazone reduces LDL oxidation and lowers plasma E-selectin concentration in NIDDM patients. *Diabetes*. 1998 Jan;47(1):130-3.

- 
- <sup>274</sup> Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Giorgino F, Ebeling P, Fuller JH, Stehouwer CD; EURODIAB Prospective Complications Study. Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care*. 2003 Jul;26(7):2165-73.
- <sup>275</sup> Hackman A, Abe Y, Insull W Jr, Pownall H, Smith L, Dunn K, Gotto AM Jr, Ballantyne CM. Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation*. 1996 Apr 1;93(7):1334-8.
- <sup>276</sup> Sampietro T, Tuoni M, Ferdeghini M, Ciardi A, Marraccini P, Prontera C, Sassi G, Taddei M, Bionda A. Plasma cholesterol regulates soluble cell adhesion molecule expression in familial hypercholesterolemia. *Circulation*. 1997 Sep 2;96(5):1381-5.
- <sup>277</sup> Calabresi L, Gomaraschi M, Villa B, Omoboni L, Dmitrieff C, Franceschini G. Elevated soluble cellular adhesion molecules in subjects with low HDL-cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:656–61.
- <sup>278</sup> Cockerill GW, Reed S. High-density lipoprotein: multipotent effects on cells of the vasculature. *Int Rev Cytol* 1999;188:257– 97.
- <sup>279</sup> Cockerill GW, Saklatvala J, Ridley SH, Yarwood H, Miller NE, Oral B, Nithyanathan S, Taylor G, Haskard DO. High-density lipoproteins differentially modulate cytokine-induced expression of E-selectin and cyclooxygenase-2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Apr;19(4):910-7.
- <sup>280</sup> Tonstad S, Sundfor T, Seljeflot I. Effect of lifestyle changes on atherogenic lipids and endothelial cell adhesion molecules in young adults with familial premature coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2005;95:1187– 91.
- <sup>281</sup> Sardo MA, Castaldo M, Cinquegrani M, Bonaiuto M, Maesano A, Schepis F, Zema MC, Campo GM, Squadrito F, Saitta A. Effects of simvastatin treatment on sICAM-1 and sE-selectin levels in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis*. 2001 Mar;155(1):143-7.
- <sup>282</sup> Alonso R, Mata P, De Andres R, Villacastin BP, Martinez- Gonzalez J, Badimon L. Sustained long-term improvement of arterial endothelial function in heterozygous familial hypercholesterolemia patients treated with simvastatin. *Atherosclerosis* 2001; 157:423– 9.
- <sup>283</sup> van Haelst PL, van Doormaal JJ, Asselbergs FW, van Roon AM, Veeger NJ, Henneman MM, Smit AJ, Tervaert JW, May JF, Gans RO. Correlates of endothelial function and their relationship with inflammation in patients with familial hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)*. 2003 Jun;104(6):627-32.
- <sup>284</sup> Nawawi H, Osman NS, Annuar R, Khalid BA, Yusoff K. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-6 levels reflect endothelial dysfunction in patients with primary hypercholesterolaemia treated with atorvastatin. *Atherosclerosis* 2003;169:283– 91.



- 
- <sup>285</sup> Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H. Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002;162:179– 85.
- <sup>286</sup> Khare A, Shetty S, Ghosh K, Mohanty D, Chatterjee S. Evaluation of markers of endothelial damage in cases of young myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2005;180:375– 80.
- <sup>287</sup> Vlot AJ, Koppelman SJ, Bouma BN, Sixma JJ. Factor VIII and von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 1998;79:456– 65.
- <sup>288</sup> Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res* 1997;34:255– 65.
- <sup>289</sup> Rumley A, Lowe GD, Sweetnam PM, Yarnell JW, Ford RP. Factor VIII, von Willebrand factor and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Heart Study. *Br J Haematol*. 1999 Apr;105(1):110-6.
- <sup>290</sup> Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Nijpels G, Dekker JM, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetes*. 2000 Mar;49(3):485-91.
- <sup>291</sup> Meade TW, Cooper JA, Stirling Y, Howarth DJ, Ruddock V, Miller GJ. Factor VIII, ABO blood group and the incidence of ischaemic heart disease. *Br J Haematol* 1994;88:601–7.
- <sup>292</sup> Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995;332:635– 41.
- <sup>293</sup> Jansson JH, Nilsson TK, Johnson O. von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death. *Br Heart J* 1991;66:351–5.
- <sup>294</sup> Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Prognostic value of plasma von Willebrand factor and soluble P-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 994 patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Circulation* 2003;107:3141 – 5.
- <sup>295</sup> Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Plasma von Willebrand factor and soluble p-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 1321 patients with nonvalvular atrial fibrillation: relationship to stroke risk factors. *Circulation* 2002;106:1962– 7.
- <sup>296</sup> Seigneur M, Boisseau M, Conri C, Lestage B, Amiral J, Constans J. Circulating endothelial markers and ischemic status in peripheral occlusive arterial disease. *Nouv Rev Fr Hematol* 1995;37:171– 3.

- 
- <sup>297</sup> Blann AD, Bushell D, Davies A, Faragher EB, Miller JP, McCollum CN. von Willebrand factor, the endothelium and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1993;17:723– 5.
- <sup>298</sup> Blann AD, Naqvi T, Waite M, McCollum CN. von Willebrand factor and endothelial damage in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 1993;7:107 – 11.
- <sup>299</sup> Spencer CG, Gurney D, Blann AD, Beevers DG, Lip GY. Von Willebrand factor, soluble P-selectin, and target organ damage in hypertension: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT). *Hypertension* 2002;40:61–6.
- <sup>300</sup> Blann A, Porter M. Distribution of lipid phenotypes in communityliving men with coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1993; 153:1609.
- <sup>301</sup> Blann AD, Miller JP, McCollum CN. von Willebrand factor and soluble E-selectin in the prediction of cardiovascular disease progression in hyperlipidaemia. *Atherosclerosis* 1997;132:151– 6.
- <sup>302</sup> Constans J, Blann AD, Renard M, Guerin V, Conri C. Soluble thrombomodulin in hypercholesterolaemic patients. *Lancet* 2000; 355:145.
- <sup>303</sup> Sidhu JS, Cowan D, Kaski JC. Effects of rosiglitazone on endothelial function in men with coronary artery disease without diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2004;94:151–6.
- <sup>304</sup> Sidhu JS, Cowan D, Kaski JC. The effects of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, on markers of endothelial cell activation, C-reactive protein, and fibrinogen levels in non-diabetic coronary artery disease patients. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1757– 63.
- <sup>305</sup> Tousoulis D, Antoniadou C, Tountas C, Bosinakou E, Kotsopoulou M, Toutouzas P, Stefanadis C. Vitamin C affects thrombosis/ fibrinolysis system and reactive hyperemia in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care*. 2003 Oct;26(10):2749-53.
- <sup>306</sup> Lim HS, Chong AY, Freestone B, Blann AD, Lip GY. The effect of multi-factorial intervention on plasma von Willebrand factor, soluble E-selectin and tissue factor in diabetes mellitus: implications for atherosclerotic vascular disease. *Diabet Med* 2005;22:249– 55.
- <sup>307</sup> Constans J, Blann AD, Resplandy F, Parrot F, Renard M, Seigneur M, Guérin V, Boisseau M, Conri C. Three months supplementation of hyperhomocysteinaemic patients with folic acid and vitamin B6 improves biological markers of endothelial dysfunction. *Br J Haematol*. 1999 Dec;107(4):776-8.
- <sup>308</sup> Woodward M, Lowe GD, Francis LM, Rumley A, Cobbe SM. A randomized comparison of the effects of aspirin and clopidogrel on thrombotic risk factors and C-reactive protein following myocardial infarction: the CADET trial. *J Thromb Haemost* 2004;2:1934– 40.

- 
- <sup>309</sup> Ray KK, Morrow DA, Gibson CM, Murphy S, Antman EM, Braunwald E. Predictors of the rise in vWF after ST elevation myocardial infarction: implications for treatment strategies and clinical outcome: An ENTIRE-TIMI 23 substudy. *Eur Heart J*. 2005 Mar;26(5):440-6. Epub 2005 Jan 26.
- <sup>310</sup> Ishii H, Uchiyama H, Kazama M. Soluble thrombomodulin antigen in conditioned medium is increased by damage of endothelial cells. *Thromb Haemost* 1991;65:618-23.
- <sup>311</sup> Boffa MC, Karochkine M, Berard M. Plasma thrombomodulin as a marker of endothelium damage. *Nouv Rev Fr Hematol* 1991; 33:529- 30.
- <sup>312</sup> Nilsson TK, Hellsten G, Amiral J. Plasma thrombomodulin concentrations in relation to cardiovascular risk factors in a population sample. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1993;4:455 - 8.
- <sup>313</sup> Blann AD, Amiral J, McCollum CN. Prognostic value of increased soluble thrombomodulin and increased soluble E-selectin in ischaemic heart disease. *Eur J Haematol* 1997;59:115-20.
- <sup>314</sup> Wu KK, Aleksic N, Ballantyne CM, Ahn C, Juneja H, Boerwinkle E. Interaction between soluble thrombomodulin and intercellular adhesion molecule-1 in predicting risk of coronary heart disease. *Circulation* 2003;107:1729 -32
- <sup>315</sup> Salomaa V, Matei C, Aleksic N, Sansores-Garcia L, Folsom AR, Juneja H, Chambless LE, Wu KK. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: a case-cohort study. *Lancet*. 1999 May 22;353(9166):1729-34.
- <sup>316</sup> Olivot JM, Labreuche J, Aiach M, Amarenco P. Soluble thrombomodulin and brain infarction: case- control and prospective study. *Stroke* 2004;35:1946- 51.
- <sup>317</sup> Sernau T, Wilhelm C, Seyfert U, Gabath S, Henkels M, Amiral J, Bergis KH, Ziegler R, Wahl P, Nawroth PP. Thrombomodulin is a marker of microvascular, but not for macrovascular endothelial cell damage. *Vasa*. 1995;24(4):347-53.
- <sup>318</sup> Peter K, Nawroth P, Conradt C, Nordt T, Weiss T, Boehme M, Wunsch A, Allenberg J, Kübler W, Bode C. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Mar;17(3):505-12.
- <sup>319</sup> Seigneur M, Dufourcq P, Conri C, Constans J, Mercié P, Pruvost A, Amiral J, Midy D, Baste JC, Boisseau MR. Levels of plasma thrombomodulin are increased in atheromatous arterial disease. *Thromb Res*. 1993 Sep 15;71(6):423-31.
- <sup>320</sup> Blann AD, Farrell A, Picton A, McCollum CN. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease. *Thromb Res* 2000;97:209-16.

- 
- <sup>321</sup> Blann AD, Seigneur M, Steiner M, Boisseau MR, McCollum CN. Circulating endothelial cell markers in peripheral vascular disease: relationship to the location and extent of atherosclerotic disease. *Eur J Clin Invest* 1997;27:916– 21.
- <sup>322</sup> Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.
- <sup>323</sup> Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986 Oct 23;315(17):1046-51.
- <sup>324</sup> Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov 7;340(8828):1111-5.
- <sup>325</sup> Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Lüscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995 Mar 1;91(5):1314-9.
- <sup>326</sup> Halcox JP, Deanfield JE. Endothelial cell function testing: how does the method help us in evaluating vascular status? *Acta Paediatr Suppl*. 2004 Dec;93(446):48-54.
- <sup>327</sup> Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R; Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *International Brachial Artery Reactivity Task Force*. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Jan 16;39(2):257-65.
- <sup>328</sup> Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, Lekakis JP, Mavrikakis ME. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond)*. 2005 Jul;109(1):55-60.
- <sup>329</sup> Leeson P, Thorne S, Donald A, Mullen M, Clarkson P, Deanfield J. Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and independent stimuli. *Heart*. 1997 Jul;78(1):22-7.
- <sup>330</sup> Herrington DM, Fan L, Drum M, Riley WA, Pusser BE, Crouse JR, Burke GL, McBurnie MA, Morgan TM, Espeland MA. Brachial flow-mediated vasodilator responses in population-based research: methods, reproducibility and effects of age, gender and baseline diameter. *J Cardiovasc Risk*. 2001 Oct;8(5):319-28.
- <sup>331</sup> Donald AE, Charakida M, Falaschetti E, Lawlor DA, Halcox JP, Golding J, Hingorani AD, Smith GD, Deanfield JE. Determinants of vascular phenotype in a large childhood population: the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Eur Heart J*. 2010 Jun;31(12):1502-10.
- <sup>332</sup> Guazzi M, Lenatti L, Tumminello G, Puppa S, Fiorentini C, Guazzi MD. The behaviour of the flow-mediated brachial artery vasodilatation during orthostatic stress in normal man. *Acta Physiol Scand*. 2004 Dec;182(4):353-60.

- 
- <sup>333</sup> Berry KL, Skyrme-Jones RA, Meredith IT. Occlusion cuff position is an important determinant of the time course and magnitude of human brachial artery flow-mediated dilation. *Clin Sci (Lond)*. 2000 Oct;99(4):261-7.
- <sup>334</sup> Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, de Koning EJ. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J*. 2005 Feb;26(4):363-8.
- <sup>335</sup> Donald AE, Halcox JP, Charakida M, Storry C, Wallace SM, Cole TJ, Friberg P, Deanfield JE. Methodological approaches to optimize reproducibility and power in clinical studies of flow-mediated dilation. *J Am Coll Cardiol*. 2008 May 20;51(20):1959-64.
- <sup>336</sup> Gori T, Grotti S, Dragoni S, Lisi M, Di Stolfo G, Sonnati S, Fineschi M, Parker JD. Assessment of vascular function: flow-mediated constriction complements the information of flow-mediated dilatation. *Heart*. 2010 Jan;96(2):141-7.
- <sup>337</sup> Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *J Clin Invest*. 1994 Jan;93(1):50-5.
- <sup>338</sup> Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, Kiowski W, Lüscher TF, Mancia G, Natali A, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Spieker LE, Taddei S, Webb DJ; Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005 Feb;23(2):233-46.
- <sup>339</sup> Quyyumi AA, Mulcahy D, Andrews NP, Husain S, Panza JA, Cannon RO 3rd. Coronary vascular nitric oxide activity in hypertension and hypercholesterolemia. Comparison of acetylcholine and substance P. *Circulation*. 1997 Jan 7;95(1):104-10.
- <sup>340</sup> Lupattelli G, Lombardini R, Schillaci G, Ciuffetti G, Marchesi S, Siepi D, Mannarino E. Flow-mediated vasoactivity and circulating adhesion molecules in hypertriglyceridemia: association with small, dense LDL cholesterol particles. *Am Heart J*. 2000 Sep;140(3):521-6.
- <sup>341</sup> Lupattelli G, Marchesi S, Lombardini R, Siepi D, Bagaglia F, Pirro M, Ciuffetti G, Schillaci G, Mannarino E. Mechanisms of high-density lipoprotein cholesterol effects on the endothelial function in hyperlipemia. *Metabolism*. 2003 Sep;52(9):1191-5.
- <sup>342</sup> Keogh JB, Grieger JA, Noakes M, Clifton PM. Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jun;25(6):1274-9.
- <sup>343</sup> Davis N, Katz S, Wylie-Rosett J. The effect of diet on endothelial function. *Cardiol Rev*. 2007 Mar-Apr;15(2):62-6.

- 
- <sup>344</sup> Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Sep;28(3):573-9.
- <sup>345</sup> Title LM, Cummings PM, Giddens K, Nassar BA. Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2185-2191.
- <sup>346</sup> Major-Pedersen A, Ihlemann N, Hermann TS, Christiansen B, Dominguez H, Kveiborg B, Nielsen DB, Svendsen OL, Køber L, Torp-Pedersen C. Effects of oral glucose load on endothelial function and on insulin and glucose fluctuations in healthy individuals. *Exp Diabetes Res*. 2008;2008:672021.
- <sup>347</sup> Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schönbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens*. 1998 Mar;16(3):291-303.
- <sup>348</sup> Muiesan ML, Salvetti M, Paini A, Monteduro C, Galbassini G, Poisa P, Porteri E, Agabiti-Rosei C, Paderno V, Belotti E, Rizzoni D, Castellano M, Agabiti-Rosei E. Prognostic role of flow-mediated dilatation of the brachial artery in hypertensive patients. *J Hypertens*. 2008 Aug;26(8):1612-8.
- <sup>349</sup> Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation*. 2003 Oct 28;108(17):2093-8.
- <sup>350</sup> Katz SD, Hryniewicz K, Hriljac I, Balidemaj K, Dimayuga C, Hudaihed A, Yasskiy A. Vascular endothelial dysfunction and mortality risk in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2005 Jan 25;111(3):310-4.
- <sup>351</sup> Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2010 Aug;26(6):631-40.
- <sup>352</sup> Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, Buithieu J, Rose MS, Conradson H, Hildebrand K, Fung M, Verma S, Lonn EM. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation*. 2011 Jan 18;123(2):163-9.
- <sup>353</sup> Suzuki T, Hirata K, Elkind MS, Jin Z, Rundek T, Miyake Y, Boden-Albala B, Di Tullio MR, Sacco R, Homma S. Metabolic syndrome, endothelial dysfunction, and risk of cardiovascular events: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Am Heart J*. 2008 Aug;156(2):405-10.
- <sup>354</sup> Lind L, Berglund L, Larsson A, Sundström J. Endothelial function in resistance and conduit arteries and 5-year risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2011 Apr 12;123(14):1545-51

- 
- <sup>355</sup> Meyer AA, Kundt G, Lenschow U, Schuff-Werner P, Kienast W. Improvement of early vascular changes and cardiovascular risk factors in obese children after a six-month exercise program. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1865-1870.
- <sup>356</sup> Dod HS, Bhardwaj R, Sajja V, Weidner G, Hobbs GR, Konat GW, Manivannan S, Gharib W, Warden BE, Nanda NC, Beto RJ, Ornish D, Jain AC. Effect of intensive lifestyle changes on endothelial function and on inflammatory markers of atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 2010 Feb 1;105(3):362-7.
- <sup>357</sup> Sturm W, Tschoner A, Engl J, Kaser S, Laimer M, Ciardi C, Klaus A, Weiss H, Sandhofer A, Patsch JR, Ebenbichler CF. Effect of bariatric surgery on both functional and structural measures of premature atherosclerosis. *Eur Heart J* 2009;30:2038-2043.
- <sup>358</sup> Asselbergs FW, van der Harst P, van Roon AM, Hillege HL, de Jong PE, Gans RO, Smit AJ, van Gilst WH. Long-term effects of pravastatin and fosinopril on peripheral endothelial function in albuminuric subjects. *Atherosclerosis*. 2008 Jan;196(1):349-55.
- <sup>359</sup> Heitzer T, Rudolph V, Schwedhelm E, Karstens M, Sydow K, Ortak M, Tschentscher P, Meinertz T, Boger R, Baldus S. Clopidogrel improves systemic endothelial nitric oxide bioavailability in patients with coronary artery disease: evidence for antioxidant and antiinflammatory effects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1648-1652.
- <sup>360</sup> Heitzer T, Ollmann I, Koke K, Meinertz T, Munzel T. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade improves vascular nitric oxide bioavailability in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2003;108:536-541.
- <sup>361</sup> Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med*. 1994 Dec 15;121(12):936-41.
- <sup>362</sup> Koh KK, Blum A, Hathaway L, Mincemoyer R, Csako G, Waclawiw MA, Panza JA, Cannon RO 3rd. Vascular effects of estrogen and vitamin E therapies in postmenopausal women. *Circulation*. 1999 Nov 2;100(18):1851-7.
- <sup>363</sup> Valdiviezo C, Lawson S, Ouyang P. An update on menopausal hormone replacement therapy in women and cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2013 Apr;20(2):148-55.
- <sup>364</sup> Charakida M, Masi S, Lüscher TF, Kastelein JJ, Deanfield JE. Assessment of atherosclerosis: the role of flow-mediated dilatation. *Eur Heart J*. 2010 Dec;31(23):2854-61.
- <sup>365</sup> Painter RC, de Rooij SR, Hutten BA, Bossuyt PM, de Groot E, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP, Roseboom TJ. Reduced intima media thickness in adults after prenatal exposure to the Dutch famine. *Atherosclerosis*. 2007 Aug;193(2):421-7. Epub 2006 Aug 17.
- <sup>366</sup> Chaturvedi N, Coady E, Mayet J, Wright AR, Shore AC, Byrd S, McG Thom SA, Kooner JS, Schalkwijk CG, Hughes AD. Indian Asian men have less peripheral arterial disease than

---

European men for equivalent levels of coronary disease. *Atherosclerosis*. 2007 Jul;193(1):204-12. Epub 2006 Jul 24.

<sup>367</sup> Allan PL, Mowbray PI, Lee AJ, Fowkes FG. Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery Study. *Stroke* 1997;28:348-53.

<sup>368</sup> Mattace Raso F, Rosato M, Talerico A, Cotronei P, Mattace R. Intimal-medial thickness of the common carotid arteries and lower limbs atherosclerosis in the elderly. *Minerva Cardioangiol*. 1999 Oct;47(10):321-7.

<sup>369</sup> Geroulakos G, O'Gorman DJ, Kalodiki E, Sheridan DJ, Nicolaidis AN. The carotid intima-media thickness as a marker of the presence of severe symptomatic coronary artery disease. *Eur Heart J*. 1994 Jun;15(6):781-5.

<sup>370</sup> Visonà A, Pesavento R, Lusiani L, Bonanome A, Cernetti C, Rossi M, Maiolino P, Pagnan A. Intimal medial thickening of common carotid artery as indicator of coronary artery disease. *Angiology*. 1996 Jan;47(1):61-6.

<sup>371</sup> Khoury Z, Schwartz R, Gottlieb S, Chenzbraun A, Stern S, Keren A. Relation of coronary artery disease to atherosclerotic disease in the aorta, carotid, and femoral arteries evaluated by ultrasound. *Am J Cardiol*. 1997 Dec 1;80(11):1429-33.

<sup>372</sup> Balbarini A, Buttitta F, Limbruno U, Petronio AS, Baglini R, Strata G, Mariotti R, Ciccone M, Mariani M. Usefulness of carotid intima-media thickness measurement and peripheral B-mode ultrasound scan in the clinical screening of patients with coronary artery disease. *Angiology*. 2000 Apr;51(4):269-79.

<sup>373</sup> Bots ML, Grobbee DE. Intima media thickness as a surrogate marker for generalised atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002;16:341-51

<sup>374</sup> Jacoby DS, Mohler IE, Rader DJ. Noninvasive atherosclerosis imaging for predicting cardiovascular events and assessing therapeutic interventions. *Curr Atheroscler Rep* 2004; 6:20-6

<sup>375</sup> de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, Kastelein JJ. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III33-8.

<sup>376</sup> Poredos P. Intima-media thickness: indicator of cardiovascular risk and measure of the extent of atherosclerosis. *Vasc Med*. 2004 Feb;9(1):46-54.

<sup>377</sup> Roman MJ, Naqvi TZ, Gardin JM, Gerhard-Herman M, Jaff M, Mohler E. Clinical application of noninvasive vascular ultrasound in cardiovascular risk stratification: a report from the American



---

Society of Echocardiography and the Society of Vascular Medicine and Biology. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;19:943-54.

<sup>378</sup> Wong M, Edelstein J, Wollman J, Bond MG. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall: verification of intima-media thickness. *Arterioscler Thromb* 1993;13:482-6.

<sup>379</sup> Dijk JM, van der Graaf Y, Bots ML, Grobbee DE, Algra A. Carotid intima-media thickness and the risk of new vascular events in patients with manifest atherosclerotic disease: the SMART study. *Eur Heart J*. 2006 Aug;27(16):1971-8. Epub 2006 Jul 11.

<sup>380</sup> Salonen R, Salonen JT. Determinants of carotid intima-media thickness: a population-based ultrasonography study in eastern Finnish men. *J Intern Med*. 1991 Mar;229(3):225-31.

<sup>381</sup> Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997 Sep 15;146(6):483-94.

<sup>382</sup> Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, Rosamond WD, Evans G. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2000 Mar 1;151(5):478-87.

<sup>383</sup> O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999 Jan 7;340(1):14-22.

<sup>384</sup> Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006 Jan;37(1):87-92. Epub 2005 Dec 8.

<sup>385</sup> Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, Azen SP. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med*. 1998 Feb 15;128(4):262-9.

<sup>386</sup> Bots ML, Grobbee DE. Intima media thickness as a surrogate marker for generalised atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002;16:341-51.

<sup>387</sup> Gottdiener JS, Bednarz J, Devereux R, Gardin J, Klein A, Manning WJ, Morehead A, Kitzman D, Oh J, Quinones M, Schiller NB, Stein JH, Weissman NJ; American Society of Echocardiography. American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004 Oct;17(10):1086-119.

- 
- <sup>388</sup> Espeland MA, O'leary DH, Terry JG, Morgan T, Evans G, Mudra H. Carotid intimal-media thickness as a surrogate for cardiovascular disease events in trials of HMG-CoA reductase inhibitors. *Curr Control Trials Cardiovasc Med*. 2005 Mar 10;6(1):3.
- <sup>389</sup> Beishuizen ED, van de Ree MA, Jukema JW, Tamsma JT, van der Vijver JC, Meinders AE, Putter H, Huisman MV. Two-year statin therapy does not alter the progression of intima-media thickness in patients with type 2 diabetes without manifest cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 2004 Dec;27(12):2887-92.
- <sup>390</sup> Elkeles RS, Diamond JR, Poulter C, Dhanjil S, Nicolaides AN, Mahmood S, Richmond W, Mather H, Sharp P, Feher MD. Cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. A double-blind placebo-controlled study of bezafibrate: the St. Mary's, Ealing, Northwick Park Diabetes Cardiovascular Disease Prevention (SENDCAP) Study. *Diabetes Care*. 1998 Apr;21(4):641-8.
- <sup>391</sup> Yamasaki Y, Kim YS, Kawamori R. Rationale and protocol of a trial for prevention of diabetic atherosclerosis by using antiplatelet drugs: study of Diabetic Atherosclerosis Prevention by Cilostazol (DAPC study). *Cardiovasc Diabetol*. 2006 Aug 22;5:16.
- <sup>392</sup> Kodama M, Yamasaki Y, Sakamoto K, Yoshioka R, Matsuhisa M, Kajimoto Y, Kosugi K, Ueda N, Hori M. Antiplatelet drugs attenuate progression of carotid intima-media thickness in subjects with type 2 diabetes. *Thromb Res*. 2000 Feb 15;97(4):239-45.
- <sup>393</sup> Cesarone MR, Laurora G, DeSanctis MT, Incandela L, Fugazza L, Girardello R, Poli A, Peracino L, Ambrosoli L, Belcaro G. Effects of triflusal on arteriosclerosis progression assessed with high-resolution arterial ultrasound. *Angiology*. 1999 Jun;50(6):455-63.
- <sup>394</sup> de Kleijn MJ, Bots ML, Bak AA, Westendorp IC, Planellas J, Coelingh Bennink HJ, Wittteman JC, Grobbee DE. Hormone replacement therapy in perimenopausal women and 2-year change of carotid intima-media thickness. *Maturitas*. 1999 Aug 16;32(3):195-204.
- <sup>395</sup> Angerer P, Störk S, Kothny W, Schmitt P, von Schacky C. Effect of oral postmenopausal hormone replacement on progression of atherosclerosis : a randomized, controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Feb;21(2):262-8.
- <sup>396</sup> Byington RP, Furberg CD, Herrington DM, Herd JA, Hunninghake D, Lowery M, Riley W, Craven T, Chaput L, Ireland CC, Applegate WB; Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Research Group. Effect of estrogen plus progestin on progression of carotid atherosclerosis in postmenopausal women with heart disease: HERS B-mode substudy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Oct 1;22(10):1692-7.
- <sup>397</sup> Hodis HN, Mack WJ, Lobo RA, Shoupe D, Sevanian A, Mahrer PR, Selzer RH, Liu Cr CR, Liu Ch CH, Azen SP; Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis Trial Research Group. Estrogen in the prevention of atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*. 2001 Dec 4;135(11):939-53.

- 
- <sup>398</sup> Bots ML, Evans GW, Riley W, McBride KH, Paskett ED, Helmond FA, Grobbee DE; OPAL Investigators. The effect of tibolone and continuous combined conjugated equine oestrogens plus medroxyprogesterone acetate on progression of carotid intima-media thickness: the Osteoporosis Prevention and Arterial effects of tiboLone (OPAL) study. *Eur Heart J*. 2006 Mar;27(6):746-55. Epub 2006 Jan 16.
- <sup>399</sup> 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 Sep;90(9):5161-6. Epub 2005 Jun 28.
- <sup>400</sup> Berra M, Liao LM, Creighton SM, Conway GS. Long-term health issues of women with XY karyotype. *Maturitas*. 2010 Feb;65(2):172-8. doi: 10.1016/j.maturitas.2009.12.004. Epub 2010 Jan 15.
- <sup>401</sup> Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnikar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 1991 Oct 24;325(17):1196-204.
- <sup>402</sup> Sack MN, Rader DJ, Cannon RO 3rd. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet*. 1994 Jan 29;343(8892):269-70.
- <sup>403</sup> Koh KK, Jin DK, Yang SH, Lee SK, Hwang HY, Kang MH, Kim W, Kim DS, Choi IS, Shin EK. Vascular effects of synthetic or natural progestagen combined with conjugated equine estrogen in healthy postmenopausal women. *Circulation*. 2001 Apr 17;103(15):1961-6.
- <sup>404</sup> van der Schouw YT, van der Graaf Y, Steyerberg EW, Eijkemans JC, Banga JD. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet*. 1996 Mar 16;347(9003):714-8.
- <sup>405</sup> Wellons M. Cardiovascular disease and primary ovarian insufficiency. *Semin Reprod Med*. 2011 Jul;29(4):328-41. doi: 10.1055/s-0031-1280918. Epub 2011 Oct 3.
- <sup>406</sup> 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 Sep;90(9):5161-6. Epub 2005 Jun 28.
- <sup>407</sup> 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 Apr;66(4):557-64.
- <sup>408</sup> Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, Kazakos N, Kravariti M, Calis KA, Paraskevaidis EA, Sideris DA, Tsatsoulis A, Chrousos GP, Michalis LK. Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Aug;89(8):3907-13.
- <sup>409</sup> Kalantaridou SN, Naka KK, Bechlioulis A, Makrigiannakis A, Michalis L, Chrousos GP. Premature ovarian failure, endothelial dysfunction and estrogen-progestogen replacement. *Trends Endocrinol Metab*. 2006 Apr;17(3):101-9. Epub 2006 Mar 3. Review.

- 
- <sup>410</sup> Valdiviezo C, Lawson S, Ouyang P. An update on menopausal hormone replacement therapy in women and cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013 Apr;20(2):148-55. doi: 10.1097/MED.0b013e32835ed58b.
- <sup>411</sup> Brunzell JD, Davidson M, Furberg CD, Goldberg RB, Howard BV, Stein JH, Witztum JL; American Diabetes Association; American College of Cardiology Foundation. Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus statement from the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation. *Diabetes Care.* 2008 Apr;31(4):811-22. doi: 10.2337/dc08-9018. Review. No abstract available.
- <sup>412</sup> Gaziano JM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Breslow JL, Buring JE. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. *Circulation.* 1997 Oct 21;96(8):2520-5.
- <sup>413</sup> Milada Dobiášová, Jiri Frohlich, Michaela Šedová, Marian C. Cheung, B. Greg Brown. Cholesterol esterification and atherogenic index of plasma correlate with lipoprotein size and findings on coronary angiography. *J Lipid Res.* 2011 March; 52(3): 566–571. doi: 10.1194/jlr.P011668
- <sup>414</sup> Christodoulakos G, Lambrinouadaki I, Panoulis C, Papadias C, Economou E, Creatsas G. Effect of hormone therapy and raloxifene on serum VE-cadherin in postmenopausal women. *Fertil Steril.* 2004 Sep;82(3):634-8.
- <sup>415</sup> Bobryshev YV, Cherian SM, Inder SJ, Lord RS. Neovascular expression of VE-cadherin in human atherosclerotic arteries and its relation to intimal inflammation. *Cardiovasc Res.* 1999 Sep;43(4):1003-17.
- <sup>416</sup> Farzati A, Esposito K, Colacurci N, Fornaro F, Chiantera V, Farzati B. Effects of transdermal hormone replacement therapy on levels of soluble P- and E-selectin in postmenopausal healthy women. *Fertil Steril.* 2002 Mar;77(3):476-80.
- <sup>417</sup> Blann AD, Lip GY. The endothelium in atherothrombotic disease: assessment of function, mechanisms and clinical implications. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1998 Jun;9(4):297-306.
- <sup>418</sup> Kvasnicka T, Kvasnicka J, Ceska R, Grauová B, Vrablík M. Increasing plasma levels of soluble cell adhesion molecules (sE-Selectin, sP-Selectin and sICAM-1) in overweight adults with combined hyperlipidemia. *Sb Lek.* 2001;102(4):473-7.
- <sup>419</sup> Gearing AJ, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today.* 1993 Oct;14(10):506-12.
- <sup>420</sup> Lip GY, Blann AD. von Willebrand factor and its relevance to cardiovascular disorders. *Br Heart J.* 1995 Dec;74(6):580-3. Review.
- <sup>421</sup> Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, Mitchell GF, Sheffy J, Vita JA, Benjamin EJ. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008 May 13;117(19):2467-74. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.748574. Epub 2008 May 5.

- 
- <sup>422</sup> Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997 Sep 15;146(6):483-94.
- <sup>423</sup> Dobiášová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem*. 2001 Oct;34(7):583-8.
- <sup>424</sup> <http://www.biomed.cas.cz/fgu/aip/calculator.php>
- <sup>425</sup> Mihmanli V, Mihmanli I, Atakir K, Kantarci F, Aydin T, Sengun Y, Uysal O. Carotid intima-media thickness in surgical menopause: women who received HRT versus who did not. *Maturitas*. 2002 May 20;42(1):37-43
- <sup>426</sup> Brites FD, Bonavita CD, Cloës M, Yael MJ, Fruchart JC, Castro GR, Wikinski RW. VLDL compositional changes and plasma levels of triglycerides and high density lipoprotein. *Clin Chim Acta*. 1998 Jan 30;269(2):107-24
- <sup>427</sup> Gaziano JM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Breslow JL, Buring JE. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. *Circulation*. 1997 Oct 21;96(8):2520-5
- <sup>428</sup> Nwagha UI, Ikekpeazu EJ, Ejezie FE, Neboh EE, Maduka IC. Atherogenic index of plasma as useful predictor of cardiovascular risk among postmenopausal women in Enugu, Nigeria. *Afr Health Sci*. Sep 2010; 10(3): 248–252.
- <sup>429</sup> Matthews KA, Meilahn E, Kuller LH, Kelsey SF, Caggiula AW, Wing RR. Menopause and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1989 Sep 7;321(10):641-6
- <sup>430</sup> Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. *N Engl J Med*. 1991 Sep 12;325(11):756-62
- <sup>431</sup> Gulhan I, Bozkaya G, Uyar I, Oztekin D, Pamuk BO, Dogan E. Serum lipid levels in women with premature ovarian failure. *Menopause*. 2012 Nov;19(11):1231-4. doi: 10.1097/gme.0b013e318254102b.
- <sup>432</sup> Knauff EA, Westerveld HE, Goverde AJ, Eijkemans MJ, Valkenburg O, van Santbrink EJ, Fauser BC, van der Schouw YT. Lipid profile of women with premature ovarian failure. *Menopause*. 2008 Sep-Oct; 15(5):919-23. doi: 10.1097/gme.0b013e31816b4509.
- <sup>433</sup> Papagianni V, Deligeoroglou E, Makrakis E, Botsis D, Creatsas G. Response to hormonal treatment of young females with primary or very premature ovarian failure. *Gynecol Endocrinol*. 2011 May;27(5):291-9. doi: 10.3109/09513591003632274. Epub 2011 Mar 7.
- <sup>434</sup> Yahata T, Kurabayashi T, Kato R, Yamamoto Y, Fujimaki T, Yasuda M, Oda K, Yoshizawa H, Tanaka K. Effect of hormone replacement therapy on lipid metabolism in patients with

---

premature ovarian failure and Turner's syndrome. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1994 Nov;46(11):1197-204.

<sup>435</sup> Ivanisević M, Vujović S, Drezgić M. Effects of estro-progestagens on lipid and hormonal profiles in women with premature primary ovarian failure. *Med Pregl*. 2005 May-Jun;58(5-6):296-300.

<sup>436</sup> Soeki T, Tamura Y, Shinohara H, Sakabe K, Onose Y, Fukuda N. Elevated concentration of soluble vascular endothelial cadherin is associated with coronary atherosclerosis. *Circ J*. 2004 Jan;68(1):1-5.

<sup>437</sup> Matsumoto K, Sera Y, Nakamura H, Ueki Y, Miyake S. Serum concentrations of soluble adhesion molecules are related to degree of hyperglycemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2002 Feb;55(2):131-8.

<sup>438</sup> El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Salman TM, Ibrahim SM. Adiponectin and sE-selectin concentrations in relation to inflammation in obese type 2 diabetic patients with coronary heart disease. *Angiology*. 2012 Feb;63(2):96-102. doi: 10.1177/0003319711408587. Epub 2011 May 20.

<sup>439</sup> Kowalska I, Straczkowski M, Nikolajuk A, Kinalska I, Górská M, Prokop J, Bachórzewska-Gajewska H, Musiał W. Plasma adiponectin and E-selectin concentrations in patients with coronary heart disease and newly diagnosed disturbances of glucose metabolism. *Adv Med Sci*. 2006;51:94-7.

<sup>440</sup> Salpeter SR, Walsh JM, Ormiston TM, Greyber E, Buckley NS, Salpeter EE. Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women.

<sup>441</sup> Silvestri A, Gebara O, Vitale C, Wajngarten M, Leonardo F, Ramires JA, Fini M, Mercurio G, Rosano GM. Increased levels of C-reactive protein after oral hormone replacement therapy may not be related to an increased inflammatory response. *Circulation*. 2003 Jul 1;107(25):3165-9. Epub 2003 Jun 9.

<sup>442</sup> Duschek EJ, Stehouwer CD, de Valk-de Roo GW, Schalkwijk CG, Lambert J, Netelenbos C. Raloxifene, conjugated oestrogen and endothelial function in postmenopausal women. *J Intern Med*. 2003 Jul;254(1):85-94.

<sup>443</sup> van Baal WM, Kenemans P, Emeis JJ, Schalkwijk CG, Mijatovic V, van der Mooren MJ, Vischer UM, Stehouwer CD. Long-term effects of combined hormone replacement therapy on markers of endothelial function and inflammatory activity in healthy postmenopausal women. *Fertil Steril*. 1999 Apr;71(4):663-70.

- 
- <sup>444</sup> Eilertsen AL, Sandvik L, Steinsvik B, Sandset PM. Differential impact of conventional-dose and low-dose postmenopausal hormone therapy, tibolone and raloxifene on C-reactive protein and other inflammatory markers. *J Thromb Haemost*. 2008 Jun;6(6):928-34. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.02970.x. Epub 2008 Apr 3.
- <sup>445</sup> Scarabin PY, Alhenc-Gelas M, Plu-Bureau G, Taisne P, Agher R, Aiach M. Effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. A randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Nov;17(11):3071-8.
- <sup>446</sup> Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Jan 16;39(2):257-65.
- <sup>447</sup> Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangre D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995 Nov 1;26(5):1235-41.
- <sup>448</sup> Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*. 2000 Apr 25;101(16):1899-906.
- <sup>449</sup> Bush DE, Jones CE, Bass KM, Walters GK, Bruza JM, Ouyang P. Estrogen replacement reverses endothelial dysfunction in postmenopausal women. *Am J Med*. 1998 Jun;104(6):552-8.
- <sup>450</sup> Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med*. 1994 Dec 15;121(12):936-41.
- <sup>451</sup> Vehkavaara S, Hakala-Ala-Pietilä T, Virkamäki A, Bergholm R, Ehnholm C, Hovatta O, Taskinen MR, Yki-Järvinen H. Differential effects of oral and transdermal estrogen replacement therapy on endothelial function in postmenopausal women. *Circulation*. 2000 Nov 28;102(22):2687-93.
- <sup>452</sup> Herrington DM, Espeland MA, Crouse JR 3rd, Robertson J, Riley WA, McBurnie MA, Burke GL. Estrogen replacement and brachial artery flow-mediated vasodilation in older women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Dec;21(12):1955-61.
- <sup>453</sup> Kelemen M, Vaidya D, Waters DD, Howard BV, Cobb F, Younes N, Tripputti M, Ouyang P. Hormone therapy and antioxidant vitamins do not improve endothelial vasodilator function in postmenopausal women with established coronary artery disease: a substudy of the Women's

---

Angiographic Vitamin and Estrogen (WAVE) trial. *Atherosclerosis*. 2005 Mar;179(1):193-200. Epub 2004 Dec 28.

<sup>454</sup> Yeboah J, Reboussin DM, Waters D, Kowalchuk G, Herrington DM. Effects of estrogen replacement with and without medroxyprogesterone acetate on brachial flow-mediated vasodilator responses in postmenopausal women with coronary artery disease. *Am Heart J*. 2007 Mar;153(3):439-44.

<sup>455</sup> Tremollieres FA, Cigagna F, Alquier C, Cauneille C, Pouilles J, Ribot C. Effect of hormone replacement therapy on age-related increase in carotid artery intima-media thickness in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2000 Nov;153(1):81-8.

<sup>456</sup> Westendorp IC, in 't Veld BA, Bots ML, Akkerhuis JM, Hofman A, Grobbee DE, Witteman JC. Hormone replacement therapy and intima-media thickness of the common carotid artery: the Rotterdam study.

<sup>457</sup> de Kleijn MJ, Bots ML, Bak AA, Westendorp IC, Planellas J, Coelingh Bennink HJ, Witteman JC, Grobbee DE. Hormone replacement therapy in perimenopausal women and 2-year change of carotid intima-media thickness. *Maturitas*. 1999 Aug 16;32(3):195-204.

<sup>458</sup> Teede HJ, Liang YL, Shiel LM, McNeil JJ, McGrath BP. Hormone replacement therapy in postmenopausal women protects against smoking-induced changes in vascular structure and function. *J Am Coll Cardiol*. 1999 Jul;34(1):131-7.

<sup>459</sup> Sator MO, Joura EA, Gruber DM, Wieser F, Jirecek S, Tschugguel W, Huber JC. The effect of hormone replacement therapy on carotid arteries: measurement with a high frequency ultrasound system. *Maturitas*. 1998 Sep 20;30(1):63-8.

<sup>460</sup> Muscat Baron Y, Brincat M, Galea R. Carotid artery wall thickness in women treated with hormone replacement therapy. *Maturitas*. 1997 May;27(1):47-53.

<sup>461</sup> Signorelli SS, Sciacchitano S, Di Pino L, Costa MP, Pennisi G, Caschetto S. Effects of long-term hormone replacement therapy on arterial wall thickness, lipids and lipoproteins, fibrinogen and antithrombin III. *Gynecol Endocrinol*. 2001 Oct;15(5):367-72.

<sup>462</sup> Sumino H, Ichikawa S, Kasama S, Kumakura H, Takayama Y, Sakamaki T, Kurabayashi M. Effect of transdermal hormone replacement therapy on carotid artery wall thickness and levels of vascular inflammatory markers in postmenopausal women. *Hypertens Res*. 2005 Jul;28(7):579-84.



---

<sup>463</sup> Byington RP, Furberg CD, Herrington DM, Herd JA, Hunninghake D, Lowery M, Riley W, Craven T, Chaput L, Ireland CC, Applegate WB; Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Research Group. Effect of estrogen plus progestin on progression of carotid atherosclerosis in postmenopausal women with heart disease: HERS B-mode substudy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Oct 1;22(10):1692-7.