



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών  
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΤΟΜΕΑΣ ΥΓΕΙΑΣ ΜΗΤΕΡΑΣ-ΠΑΙΔΙΟΥ**  
**Β΄ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**«ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ» ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΒΛΑΧΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ**  
**ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ AMYLOID PRECURSOR PROTEIN (APP), ΤΩΝ**  
**ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥΣ SAPP ΚΑΙ SAPPB ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ**  
**ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΛΗΞΙΑΣ HSP-60 ΜΕ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥΣ**  
**ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΩΝ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΣΟΥΡΕΤΗ**

**ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2022**

## ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ημερομηνία ορισμού της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 24/02/2015

### Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. **Πανουλής Κωνσταντίνος:** Καθηγητής, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
2. **Λαμπρινουδάκη Ειρήνη:** Καθηγήτρια, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
3. **Δρακούλης Νικόλαος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 21/12/2015

---

- Α' Έκθεση προόδου : 13/06/2016
- Β' Έκθεση προόδου : 21/03/2022
- Γ' Έκθεση προόδου : 18/11/2022

Ημερομηνία κατάθεσης της διδακτορικής διατριβής: 18/11/2022

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής : Καθηγητής Γεράσιμος Σιάσος

**Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:**

1. **Πανουλής Κωνσταντίνος:** Καθηγητής, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
2. **Λαμπρινουδάκη Ειρήνη:** Καθηγήτρια, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
3. **Δρακούλης Νικόλαος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ
4. **Σοφία Καλανταρίδου:** Καθηγήτρια, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Γ' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, ΑΤΤΙΚΟ Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
5. **Ελευθεριάδης Μακάριος:** Αναπληρωτής Καθηγητής, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
6. **Καπαρός Γεώργιος:** Αναπληρωτής Καθηγητής, Τομέας κλινικοεργαστηριακός, Εργαστήριο Βιοπαθολογίας Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών, ΕΚΠΑ
7. **Σταυρούλα Πάσχου:** Επίκουρη Καθηγήτρια Ενδοκρινολογίας, Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ

**Βαθμός Διατριβής: ΑΡΙΣΤΑ**

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Οργανισμός του Πανεπιστημίου Αθηνών, άρθρο 202, παράγραφος 2, νόμος 5343).

## Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε. Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιποροῦντι, τάναντία τουτέων.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ Ο ΚΩΟΣ (460-370 π.Χ)

## Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

(ΝΕΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ)

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή. Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνό του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία. Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο. Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη. Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης. Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά. Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ Ο ΚΩΟΣ (460-370 π.Χ)

# ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

**Όνοματεπώνυμο:** Σουρέτη Αναστασία

**Ημερομηνία γέννησης:** 25/08/1984

**E-mail:** [nat.soureti@gmail.com](mailto:nat.soureti@gmail.com)

## ΣΠΟΥΔΕΣ

- Απολυτήριο Γενικού Λυκείου (2002)
- Πτυχίο Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ρώμης "La Sapienza" (2009), βαθμός πτυχίου 96/110
- Άδεια Ασκήσεως Επαγγέλματος (2009)
- Μεταπτυχιακές Σπουδές : MSc και Ειδίκευση στην «Κλινική Φαρμακευτική», στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών (2010-2012), βαθμός μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών 9/10
- Υποψήφια διδάκτωρ της Ιατρικής σχολής Αθηνών (στο Αρεταίειο από το 2012)

## ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

- «Καλλιέργειες Μικροβίων», Φαρμακευτικό Συνέδριο (9-11/5/09).
- «7th EACPT summer school in clinical pharmacology and therapeutics» (19-22/09/2009).
- «Ιογενείς λοιμώξεις: μια κλινική προσέγγιση» (11-12/12/2009).
- «Διεθνές Συνέδριο Καρδιαγγειακής Ιατρικής» (19-20/03/2010).
- «Διεθνές Συνέδριο Ογκολογίας» (6-8/7/2011).

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

- Πτυχιακή Εργασία με θέμα «Φαρμακευτική Βοτανολογία»
- Μεταπτυχιακή Εργασία με θέμα «Η Θρομβοφιλία ως αίτιο καθ'έξιν αποβολών». (Επιβλέποντες Καθηγητές Ν.Δρακούλης, Σ.Κιρρούδη, Γ.Μαχαίρας), (2012)
- Υποψήφια Διδάκτωρ του Πανεπιστημίου Αθηνών, «ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ» Νοσοκομείο, με θέμα: «Η θεραπεία διαδερμικής Ορμονικής Υποκατάστασης σε περιεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με τη χορήγηση οιστρογονικών pellets και η επίδρασή τους στην εμφάνιση του καρκίνου του μαστού» (Επιβλέπων Καθηγητής Γ.Κρεατσάς), (από το 2012).

- Μαθήματα ομοιοπαθητικών στην εταιρεία Medicum (Γ.Παπαιωάννου 2014)

### **ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ- ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ**

- 2008-2010: Εργασία σε Εργαστήριο spin-off του Πανεπιστημίου Αθηνών, Research Diagnostics, Λεωφ.Βουλιαγμένης 429, Άγιος Δημήτριος, Αθήνα, το οποίο ειδικεύεται στις Κλινικές Μελέτες και στην Μοριακή Ανάλυση Γενετικού Υλικού.
- 2010-2011: Εξειδίκευση στην Κλινική Φαρμακολογία στο Ογκολογικό Νοσοκομείο Άγιοι Ανάργυροι, Νοσοκομείο Ευαγγελισμός, Αττικό Νοσοκομείο Αθηνών, στο Νοσοκομείο ΚΑΤ, στο Θεραπευτήριο Ιατρικό Αθηνών, στο Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο Αθηνών, στο Νοσοκομείο Αγία Όλγα, στο Νοσοκομείο Παίδων Αγλαΐα Κυριακού και στο Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Νίκαιας.
- 2011-2012: Συμμετοχή στο κλινικό πρόγραμμα του Αιματολογικού Κέντρου του Θεραπευτηρίου Μητέρα ΑΕ, Λεωφ. Κηφισίας & Ερυθρού Σταυρού 6, Μαρούσι, Αθήνα.
- 2011-6.12.2012: εργασία στο Νοσοκομείο «Αμαλία Φλέμιγκ» ως Νοσοκομειακός Φαρμακοποιός.

### **ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ – ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ – ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

- Amgen Protocol “A Cross-sectional study to collect data on 10-year fracture risk in a population of post-menopausal women with osteopenia, not receiving osteoporosis treatment, in routine clinical care in Greece”, Principle Investigator: Dr I. Lambrinoudaki, Site Name: B Obstetrics and Gynecology Clinic, Aretaieio Hospital, 2016
- “Η ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΑ ΚΑΤΑΓΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΣΕ ΜΗ ΔΙΑΒΗΤΙΚΕΣ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ”, Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας 2021
- “Ο ΡΥΘΜΟΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΟΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ Β” - Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας 2021

- “Bones and insulin resistance” – ECE 2021, European Congress of Endocrinology, 2021
- “VFs in menopause and insulin resistance” - WCO 2021, World Congress of Endocrinology, 2021
- “Osteoarthritis And Musculoskeletal Diseases”, World Congress On Osteoporosis 2021
- EYES 2021 Amyloid CVD

### **ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ**

1. “Circulating Amyloid Beta 1-40 Is Associated with Increased Rate of Progression of Atherosclerosis in Menopause: A Prospective Cohort Study”, Lambrinouadaki I, Delialis D, Georgiopoulos G, Tual-Chalot S, Vlachogiannis NI, Patras R, Aivalioti E, Armeni E, Augoulea A, Tsoltos N, Soureti A, Stellos K, Stamatelopoulos K. *Thromb Haemost.* 2021 May;121(5):650-658. doi: 10.1055/s-0040-1721144. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33202443
2. “Assessing the efficacy of a structured stress management program in reducing stress and climacteric symptoms in peri- and postmenopausal women”, Augoulea A, Palaiologou A, Christidi F, Armeni E, Soureti A, Alexandrou A, Panoulis K, Chroussos G, Zervas I, Lambrinouadaki I. *Arch Womens Ment Health.* 2021 Oct;24(5):727-735. doi: 10.1007/s00737-021-01106-7. Epub 2021 Mar 23. PMID: 33754212
3. “Endothelial Function in Postmenopausal Women: The Possible Role of Heat Shock Protein 60 and Serum Androgens”, Eleni Armeni, Anastasia Soureti, Areti Augoulea, Asimina Chondrou, Nikolaos Drakoulis, George Kaparos, Dimitrios Delialis, Spyros Stefos, Lasthenis Angelidakis, Alexandros Sianis, Aggeliki-Maria Dimopoulou, Andreas Alexandrou, Stavroula Baka, Aravantinos, Konstantinos Panoulis, Kimon Stamatelopoulos and Irene Lambrinouadaki, ORIGINAL RESEARCH article, *Front. Mol. Med.*, 12 July 2022, Sec. Molecular Medicine for Cardiology, <https://doi.org/10.3389/fmmed.2022.933188>



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	<i>Σελίδα</i>
<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b>	18
<b>I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	21
A. Εμμηνόπαυση	22
B. Η περιεμμηνόπαυση	23
Γ. Η διάγνωση της εμμηνόπαυσης	24
Δ. Κλιμακτηρικά συμπτώματα	25
Ε. Τα χρόνια προβλήματα της ηλικίας και η σχέση με την εμμηνόπαυση.	27
<i>E.1. Καρδιαγγειακή νόσος και η εμμηνόπαυση</i>	27
<i>E.2. Η οστική νόσος και η εμμηνόπαυση</i>	29
<i>E3. Ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης</i>	31
<i>E.4. Η σαρκοπενία</i>	31
ΣΤ. Αμυλοειδές και καρδιαγγειακή νόσος	32
Z. Υπόθεση αλληλεπίδρασης μορίων αμυλοειδούς με υποκλινική αγγειακή νόσο	39
Η. Ο ρόλος της πρωτεΐνη θερμικού σοκ 60 (HSP60)	42
Θ. Η σχέση το κυκλοφορούντων ανδρογόνων με την εξέλιξη της υποκλινικής καρδιαγγειακής νόσου	44 48
Ι. Θεραπευτικές επιλογές για τον έλεγχο της καρδιαγγειακής νόσου στην εμμηνόπαυση	50
<b>II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	52
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	53
Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακό	53

Τα αμυλοειδή και ο ρόλος τους στην αγγειακό σύστημα	53
Πρωτεΐνη θερμικού σοκ – Heat Shock Protein 60	56
Υπόθεση της παρούσας μελέτης	57
<b>ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b>	58
Υλικά και Μέθοδοι	58
Σχεδιασμός μελέτης και πληθυσμός	59
Πρωτόκολλο της μελέτης	59
Βιοχημικές και Ορμονικές δοκιμασίες	60
Διαστολή με μεσολάβηση ροής (flow mediated dilation, FMD)	62
Στατιστική ανάλυση	63
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	65
A. Περιγραφική ανάλυση	65
B. Έλεγχος συσχετίσεων	66
<i>B.1. Συσχέτιση HSP-60 με τιμές FMD και δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου</i>	66
<i>B.2. Συσχέτιση μορίων αμυλοειδούς με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου</i>	68
<i>B.3. Συσχέτιση FMD με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου</i>	70
Γ. Πολυπαραγοντική ανάλυση	71
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	74
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ</b>	78

*Στο σύζυγό μου για την συνεχή στήριξή του και  
στις δύο κόρες μου δίνουν δύναμη να συνεχίζω*

# ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στο τμήμα Κλιμακτηρίου και Εμμηνόπαυσης της Β΄ Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Αρεταίειου Νοσοκομείου Αθηνών υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Κ. Πανουλή και την συνεχή καθοδήγηση της Καθηγήτριας κ. Ε. Λαμπρινουδάκη, τους οποίους θερμά ευχαριστώ για την άψογη συνεργασία, την εμπιστοσύνη και την επιστημονική υποστήριξη που μου παρείχαν κατά την εκπόνηση της μελέτης αυτής.

Θα ήθελα, ιδιαίτερα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια κ. Ε. Λαμπρινουδάκη, για τη συμμετοχή της στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή και ιδιαίτερος για την καθοριστική συμβολή της με την επίμονη και συνεχή επιστημονική καθοδήγηση, την ενθάρρυνση, τις πρωτοποριακές της επιστημονικές ιδέες που μοιράστηκε μαζί μου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, τη συμπαράσταση σε δύσκολες στιγμές και τις πολύτιμες συμβουλές της καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης, συγγραφής και ολοκλήρωσης της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής, καθώς και για τη συνεχή άριστη συνεργασία και επικοινωνία μας.

Ευχαριστώ, επίσης, θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ν. Δρακούλη και μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής για την ουσιαστική συμμετοχή του στην αξιολόγηση και ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης και για την ευκαιρία που μου έδωσε, πιστεύοντας σε μένα, να γνωρίσω την επιστημονική και ερευνητική σκέψη.

Θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κ. Σταματελόπουλο, υπό την Επιστημονική ευθύνη του οποίου διεξήχθησαν οι αγγειολογικές μετρήσεις στη Μονάδα Αγγειολογίας και Παθοφυσιολογίας του Ενδοθηλίου της Θεραπευτικής Κλινικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και την κ. Ε. Αρμένη, Ενδοκρινολόγο, για την ουσιαστική καθοδήγησή του στο σχεδιασμό της παρούσας μελέτης καθώς και τις πολύτιμες παρατηρήσεις του που συνέβαλαν καθοριστικά στην τελική διαμόρφωσή της.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους γονείς μου και στον αδελφό μου που με ενθάρρυναν σε αυτή την προσπάθεια, ενώ ιδιαίτερα ευχαριστώ το σύζυγό μου για την

πολύπλευρη στήριξη και αμέριστη συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της δύσκολης αλλά και δημιουργικής πορείας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Οι ορμονολογικές μεταβολές της εμμηνόπαυσης είναι δυνατό να σχετίζονται με καρδιομεταβολική επιβάρυνση. Παράλληλα, μόρια όπως το αμυλοειδές-β (Αβ) και η πρωτεΐνη θερμικού σοκ 60 (HSP60), έχουν συσχετιστεί με παθοφυσιολογικές μεταβολές που ενέχονται στα αρχικά στάδια της διαδικασίας αθηρογένεσης, σε μελέτες *in vitro* αλλά και στο γενικό πληθυσμό.

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να αξιολογηθούν οι πιθανές συσχετίσεις μεταξύ της έκτασης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και των δεικτών: amyloid-B, οι ισομορφές του καθώς και ο δείκτης Heat Shock Protein 60, σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Υλικό και μέθοδος: Αυτή η περιγραφική συγχρονική μελέτη αξιολόγησε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που εξετάστηκαν στην Κλινική Εμμηνόπαυσης του Αρεταίειου Νοσοκομείου, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Όλες οι γυναίκες που επισκέφτηκαν την κλινική για πρώτη φορά κλήθηκαν να συμμετάσχουν στη μελέτη και υποβλήθηκαν, πριν την πρόσληψή τους, σε πρόγραμμα αξιολόγησης ρουτίνας που περιελάμβανε μαστογραφία μαστού, γυναικολογική εξέταση και επίχρισμα Παπανικολάου, καθώς και αξιολόγηση νεφρικής/θυρεοειδικής/ηπατικής λειτουργίας. Μετά την εφαρμογή των κριτηρίων αποκλεισμού, επιλέχθηκαν συνολικά 123 υγιείς γυναίκες να συμμετέχουν σε αυτήν τη μελέτη.

Στις γυναίκες αυτές μετρήθηκαν στον ορό η ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τα επίπεδα λιποπρωτεϊνικής χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας και της χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας, της λιποπρωτεΐνης και της γλυκόζης, τα επίπεδα HSP60, των κυκλοφορούντων πεπτιδίων Amyloid Precursor Protein (APP) και οι ισομορφές τους

sAPPα και sAPPβ, τα επίπεδα της ινσουλίνης, της FSH, της οιστραδιόλης, της SHBG, της τεστοστερόνης και της δεϋδροεπιανδροστερόνης. Ο υπερηχογραφικός έλεγχος περιλάμβανε την εκτίμηση της διαστολής της βραχιονίου αρτηρίας με μεσολάβηση ροής (FMD).

**Αποτελέσματα:** Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης υποστηρίζουν μια σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των τιμών FMD και HSP60, μετά από προσαρμογή για παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Αυτή η συσχέτιση έγινε μη σημαντική μετά από περαιτέρω προσαρμογή για το δείκτη ινσουλινοαντοχής (HOMA-IR) και τα επίπεδα των ανδρογόνων. Οι γυναίκες με υψηλότερες τιμές FSH είχαν υψηλότερα επίπεδα HSP60, ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

Η προσθήκη άλλων ορμονικών παραγόντων όπως η τεστοστερόνη ή η DHEAS στην εξίσωση έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια αυτής της ισορροπίας, με αποτέλεσμα την αγγειακή βλάβη. Τα μόρια αμυλοειδούς δεν συσχετίστηκαν με τα επίπεδα HSP60 ή με τις τιμές FMD.

**Συμπέρασμα:** Παρατηρήσαμε ότι η ενδοθηλιακή λειτουργία σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζεται θετικά με τα επίπεδα HSP60, και η συσχέτιση αυτή φαίνεται να διαμεσολαβείται από τα επίπεδα ανδρογόνων. Αντίθετα, τα μόρια αμυλοειδούς δεν φάνηκε να συσχετίζονται με την τις τιμές FMD ή τα επίπεδα HSP60. Απαιτούνται περαιτέρω προοπτικές μελέτες για να επιβεβαιωθεί η σημασία των ευρημάτων μας, σε αυτή την ομάδα γυναικών με μη αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο.

# ABSTRACT

**Introduction:** The hormonal changes of the menopausal transition are likely to be related with an increment of the individual cardiometabolic risk. Moreover, molecules like the amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) and the heat shock protein 60 (HSP60) are involved in various pathophysiological alterations during the early stages of the atherosclerotic process, as per the results of in vitro studies but also the general population

**Objective:** The purpose of this study is to evaluate possible interactions between endothelial dysfunction and the following markers: amyloid-B markers and its isoforms as well as the Heat Shock Protein 60 index, in a sample of healthy postmenopausal women.

**Material and method:** This descriptive cross-sectional study evaluated healthy postmenopausal women examined at the Menopause Unit of Aretaieo Hospital, 2nd Department of Obstetrics and Gynecology, National and Kapodistrian University of Athens. All women visiting the clinic for the first time were invited to participate in the study and underwent, prior to recruitment, a routine evaluation program including breast mammography, gynecological examination and Pap smear, as well as assessment of renal/thyroid/liver function. After applying the exclusion criteria, a total of 123 healthy women were selected to participate in this study.

In these women, serum total cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol, lipoprotein and glucose levels, levels of HSP60, circulating peptides Amyloid Precursor Protein (APP) and their isoforms  $sAPP\alpha$  and  $sAPP\beta$ , insulin, FSH, estradiol, SHBG, testosterone and dehydroepiandrosterone levels and flow-mediated dilatation (FMD), have been



assessed. Sonographical assessment included the estimation of the flow-mediation dilation (FMD) of the brachial artery.

**Results:** The results of this study support a significant positive association between FMD and HSP60 values, after adjustment for cardiovascular risk factors. This association became non-significant after additional control for insulin resistance (HOMA-IR) as well as for levels of circulating androgens. Women with higher FSH values had higher HSP60 levels, independent of traditional cardiovascular risk factors. Adding other hormonal agents such as testosterone or DHEAS to the equation results in the loss of this balance, resulting in vascular lesions. Levels of A $\beta$  or the A $\beta$ -isoforms were not associated with circulating levels of HSP60 or values of FMD.

**Conclusion:** We observed that endothelial function in postmenopausal women is positively related to HSP60 levels. This association appears to be mediated by levels of circulating androgens. On the contrary, the levels of A $\beta$  molecules or the A $\beta$ -isoforms are not associated with values of FMD or the circulating levels of HSP60. More longitudinal studies are required to confirm the significance of our findings, in this group of women with heightened cardiovascular risk.

# ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εμμηνόπαυση είναι η οριστική παύση της έμμηνου ρύσεως, και σηματοδοτεί το τέλος της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας. Η γυναίκα θεωρείται εμμηνόπαυσιακή μετά από αμηνόρροια διάρκειας τουλάχιστον 12 μηνών, και υπό τον όρο ότι έχουν αποκλειστεί άλλες παθολογικές ή φυσιολογικές αιτίες.

Η εμμηνόπαυση ουσιαστικά οφείλεται στην αδυναμία των κυκλοφορούντων ορμονών να διεγείρουν την ανάπτυξη των ωοθυλακίων που έχουν απομείνει είτε στην πλήρη εξάντληση του αριθμού των ωοθυλακίων. Οι περισσότερες γυναίκες μπαίνουν στην εμμηνόπαυση φυσικά μεταξύ 45 και 55 ετών, με τη μέση ηλικία έναρξης να είναι περίπου τα 51 έτη για τις γυναίκες της Καυκάσιας φυλής. Η πρόωρη εμμηνόπαυση μπορεί να εμφανιστεί πριν από την ηλικία των 40 ετών λόγω διαταραχής της φυσιολογικής λειτουργίας των ωοθηκών, ως αποτέλεσμα πολυπαραγοντικών διαταραχών. Η εμμηνόπαυση θεωρείται «πρώιμη» όταν εμφανίζεται μεταξύ 40 και 45 ετών. Η περιεμμηνόπαυση διακρίνεται στην πρώιμη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, η διάρκεια της οποίας ποικίλλει, και η όψιμη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, διάρκειας 1-

3 έτη πριν την τελευταία έμμηνο ρύση και έως ένα έτος μετά την εμμηνόπαυση

Η παύση της φυσιολογικής παραγωγής οιστρογόνων κατά την εμμηνόπαυση μπορεί να οδηγήσει σε επακόλουθα που κυμαίνονται από δυσάρεστα έως ενοχλητικά, τα οποία είναι εξαιρετικά συχνά. Κατά την έναρξη της εμμηνόπαυσης, οι σχετικές ορμονικές αλλαγές σχετίζονται με την επιβάρυνση του καρδιομεταβολικού προφίλ που παρατηρείται στις γυναίκες μέσης ηλικίας.

Το αμυλοειδές-β (Αβ) έχει πρόσφατα προταθεί ότι εμπλέκεται στην παθογένεση της στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης. Η πρωτεΐνη θερμικού σοκ 60 (HSP60), μια εξέχουσα

πρωτεΐνη της οικογένειας HSP, έχει μελετηθεί εξαντλητικά λόγω των καρδιοπροστατευτικών της ιδιοτήτων. Ολοένα και περισσότερες μελέτες υποδηλώνουν ότι η υψηλότερη ανδρογονικότητα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζεται με ένα προφίλ ανεπιθύμητων παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου και πιθανώς επιταχυνόμενη υποκλινική αρτηριακή νόσο.

Στην παρούσα μελέτη μελετήσαμε τη συσχέτιση ανάμεσα στο καρδιαγγειακό προφίλ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και τα επίπεδα κυκλοφορούντων πεπτιδίων αμυλοειδούς (APP και τις ισομορφές sAPPα και sAPPβ) αλλά και τα επίπεδα της πρωτεΐνης θερμικής καταπληξίας HSP-60. Το καρδιαγγειακό προφίλ των γυναικών εκτιμήθηκε ως ενδοθηλιακή λειτουργία και κλασσικοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

Η ενδοθηλιακή λειτουργία εκτιμήθηκε μέσω της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιονίου αρτηρίας μετά από αντιδραστική υπεραϊμία (flow-mediated dilatation, FMD). Ελέγχθηκε η πιθανή γραμμική συσχέτιση μεταξύ FMD και της HSP60 καθώς επίσης των μορίων αμυλοειδούς με τη HSP60 ανεξάρτητα με παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Επιχειρήθηκε η προσθήκη άλλων ορμονικών παραγόντων όπως η τεστοστερόνη ή η DHEAS στην απειλούμενη αγγειακή βλάβη.

Αυτή η περιγραφική συγχρονική μελέτη αξιολόγησε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που εξετάστηκαν στην Κλινική Εμμηνόπαυσης του Αρεταίειου Νοσοκομείου, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Το Ιατρείο Εμμηνόπαυσης δραστηριοποιείται από το 1998, προσφέροντας συμβουλές σε όλες τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που αναζητούν βοήθεια για τη

διαχείριση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση καθώς και πρακτικές πρωτογενούς πρόληψης.

Απαιτούνται περαιτέρω προοπτικές μελέτες για να επιβεβαιωθεί η σημασία των ευρημάτων μας και η αιτιολογική συσχέτιση των παραγόντων της μελέτης αυτής στην επίδραση των ανδρογόνων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε αυτή την ομάδα γυναικών με μη αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο.

# **I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## A. Εμμηνόπαυση

Η λέξη εμμηνόπαυση αναφέρεται στην οριστική παύση της έμμηνου ρύσεως, και σηματοδοτεί το τέλος της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας. Η γυναίκα θεωρείται εμμηνοπαυσιακή μετά από αμηνόρροια διάρκειας τουλάχιστον 12 μηνών, και υπό τον όρο ότι έχουν αποκλειστεί άλλες παθολογικές ή φυσιολογικές αιτίες. Η εμμηνόπαυση ουσιαστικά οφείλεται στην αδυναμία των κυκλοφορούντων ορμονών να διεγείρουν την ανάπτυξη των ωοθυλακίων που έχουν απομείνει είτε στην πλήρη εξάντληση του αριθμού των ωοθυλακίων (O'Neill and Eden 2017).

Οι περισσότερες γυναίκες μπαίνουν στην εμμηνόπαυση φυσικά μεταξύ 45 και 55 ετών, με τη μέση ηλικία έναρξης να είναι περίπου τα 51 έτη για τις γυναίκες της Καυκάσιας φυλής. Η πρόωρη εμμηνόπαυση μπορεί να εμφανιστεί πριν από την ηλικία των 40 ετών λόγω διαταραχής της φυσιολογικής λειτουργίας των ωοθηκών, ως αποτέλεσμα γενετικών διαταραχών (π.χ. σύνδρομο Turner, ή σύνδρομο εύθραυστου X) ή ανοσολογικών διαταραχών (π.χ. επινεφριδική ανεπάρκεια ή σύνδρομο πολύ-ενδοκρινικής ανεπάρκειας τύπου 1), ιατρογενώς (π.χ. μετά από χειρουργική επέμβαση αφαίρεσης των ωοθηκών ή ως αποτέλεσμα χημειοθεραπείας/ ακτινοθεραπείας) (Webber, Davies et al. 2016). Η εμμηνόπαυση θεωρείται «πρώιμη» όταν εμφανίζεται μεταξύ 40 και 45 ετών (Lambrinouadaki, Armeni et al. 2022). Η χειρουργική εμμηνόπαυση αναφέρεται στην απότομη διακοπή της ωοθηκικής λειτουργίας ως αποτέλεσμα αμφοτερόπλευρης ωοθηκεκτομής (Lambrinouadaki, Armeni et al. 2022).

## **B. Η περιεμμηνόπαυση**

Σύμφωνα με τα κριτήρια STRAW-10 (The stages of reproductive aging workshop) η περιεμμηνόπαυση είναι η χρονική περίοδος που προηγείται της εμμηνόπαυσης (Hale, Zhao et al. 2007). Η περιεμμηνόπαυση διακρίνεται στην πρόωμη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, η διάρκεια της οποίας ποικίλλει, και η όψιμη μετάβαση στην εμμηνόπαυση, διάρκειας 1-3 έτη πριν την τελευταία έμμηνο ρύση και έως ένα έτος μετά την εμμηνόπαυση (Hale, Zhao et al. 2007).

Η περιεμμηνόπαυση χαρακτηρίζεται από ορμονικές διακυμάνσεις, ανωορρηκτικούς κύκλους και εμφάνιση ακανόνιστου κύκλου και κλιμακτηριακών συμπτωμάτων (Hale, Zhao et al. 2007, Lambrinouadaki, Armeni et al. 2022). Χαρακτηριστικά κριτήρια της περιεμμηνόπαυσης είναι αλλαγές στις εμμηνορροϊκές περιόδους μιας γυναίκας, όπως ακανόνιστες διάρκεια ή ένταση εμμηνορυσίας (Hale, Zhao et al. 2007, Harlow, Gass et al. 2012). Οι εμμηνορρυσιακοί κύκλοι στη φάση αυτή μπορεί να είναι μικρότεροι ή μεγαλύτεροι σε διάρκεια (Harlow, Gass et al. 2012). Τα κλιμακτηριακά συμπτώματα μπορεί επίσης να περιλαμβάνουν εξάψεις και νυχτερινές εφιδρώσεις, πόνους και πόνους, κόπωση ή ευερεθιστότητα, καθώς και προεμμηνορροϊκά συμπτώματα όπως πόνο στο στήθος (Harlow, Gass et al. 2012). Αν και οι γυναίκες μπορεί να έχουν ακανόνιστους εμμηνορροϊκούς κύκλους και ανωορρηξία, η εγκυμοσύνη δεν είναι απίθανη και η χρήση αντισύλληψης είναι απαραίτητη. Μερικές γυναίκες μπορεί να εμφανίσουν συμπτώματα εμμηνόπαυσης για 5-10 χρόνια πριν από την τελευταία τους έμμηνο ρύση (Long, Faubion et al. 2015). Η ηλικία στην οποία θα ξεκινήσουν τα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης μιας γυναίκας ή πόσο θα διαρκέσουν, δεν είναι δυνατόν να προβλεφθεί (Troia, Martone et al. 2021).

### Γ. Η διάγνωση της εμμηνόπαυσης

Η διάγνωση της εμμηνόπαυσης είναι μια αναδρομική κλινική διάγνωση σε γυναίκες άνω των 45 ετών, με βάση τα συμπτώματα της γυναίκας και την απουσία εμμηνορρυσίας για μια περίοδο τουλάχιστον 12 μηνών (Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022). Η διάγνωση είναι προφανής όταν μια γυναίκα έχει αφαιρέσει και τις δύο ωοθήκες της χειρουργικά (O and Manyonda 2022).

Ο βιοχημικός έλεγχος για εκτίμηση της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (follicle stimulating hormone, FSH) για τη διάγνωση του σταδίου αναπαραγωγής δεν ενδείκνυται (Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022). Εξάιρεση αποτελεί μόνο η περίπτωση των γυναικών ηλικίας κάτω των 40 ετών, καθώς ο βιοχημικός προσδιορισμός της ωοθηκικής λειτουργίας είναι απαραίτητος σε νεότερες γυναίκες για τεκμηρίωση της διάγνωσης (Webber, Davies et al. 2016, Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022). Παράλληλα, βιοχημικός/ορμονολογικός έλεγχος ενδείκνυται σε περίπτωση επιθυμίας για αποκλεισμό άλλων αιτιών αμηνόρροιας, όπως θυρεοειδοπάθειας ή υπερπρολακτιναιμίας (Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022).

Η κλιμακτήριος μπορεί να ταξινομηθεί σε διακριτές φάσεις, σύμφωνα με τα στάδια που δημοσιεύτηκαν το 2012 από το Reproductive Aging Workshop (STRAW) + 10 (Harlow, Gass et al. 2012), ως εξής:

Φάσης αναπαραγωγικής γήρανσης Reproductive Aging Workshop (STRAW)	
Όψιμη αναπαραγωγική περίοδος (στάδιο -3)	Μεταβολές στους εμμηνορρυσιακούς κύκλους Ελάττωση της γονιμότητας
Πρώιμη προεμμηνόπαυσιακή περίοδος (Στάδιο -2)	Διακύμανση της χρονικής διάρκειας του εμμηνορρυσιακού κύκλου (↑) FSH (↓) AMH (↓) αριθμός ωοθυλακίων



Όψιμη προεμμηνοπαυσιακή περίοδος (Στάδιο -1)	Αμηνόρροια διάρκειας 60 ημερών ή και περισσότερο, διάρκεια 1-3 έτη Περαιτέρω (↑) FSH Διαπίστωση των πρώτων αγγειοκινητικών συμπτωμάτων
Πρώιμη μετεμμηνοπαυσιακή περίοδος (Φάσεις +1α, +1β, +1γ).	(↑) FSH (↓) οιστραδιόλης για 24 μήνες μετά την τελευταία έμμηνο ρύση
Όψιμη μετεμμηνοπαυσιακή περίοδος (Φάση +2)	Εκδήλωση συμπτωμάτων κολπικής ξηρότητας και ουρογεννητικής ατροφίας

#### **Δ. Κλιμακτηρικά συμπτώματα**

##### Αγγειοκινητικά συμπτώματα: εξάψεις και νυχτερινές εφιδρώσεις

Η παύση της φυσιολογικής παραγωγής οιστρογόνων κατά την εμμηνόπαυση μπορεί να οδηγήσει σε επακόλουθα που κυμαίνονται από δυσάρεστα έως ενοχλητικά, τα οποία είναι εξαιρετικά συχνά, καθώς μόνο το 20% των γυναικών δεν αναφέρει κάποια συμπτωματολογία κατά τη διάρκεια της μετάβασης στην εμμηνόπαυση (Davis, Lambrinoudaki et al. 2015). Τα τυπικά κλιμακτηρικά συμπτώματα που αναφέρονται συνήθως από τις γυναίκες στην περιφέρεια και μετά την εμμηνόπαυση περιλαμβάνουν εξάψεις, νυχτερινές εφιδρώσεις και δυσκολίες στον ύπνο, σωματικούς πόνους, ξηροδερμία, συμπτώματα συμβατά με το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης και αλλαγές στη διάθεση και τη μνήμη (Davis, Lambrinoudaki et al. 2015, Mili, Paschou et al. 2021).

Γνωστά ως προεξάρχοντα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης, η εμπειρία μέτριας ή σοβαρής έντασης εξάψεων και νυχτερινών εφιδρώσεων έχει σχετιστεί αρνητικά με την

ποιότητα της ζωής (Schindler 2006, Rossmanith and Ruebberdt 2009, Λαμπρινουδάκη 2015). Καθώς η γυναίκα πλησιάζει το τέλος της αναπαραγωγικής ζωής και την οριστική έκπτωση της ωοθηκικής λειτουργίας, και λόγω της ελάττωσης στα επίπεδα των οιστρογόνων, πρωτίστως εκδηλώνονται τα αγγειοκινητικά συμπτώματα, ενώ όλες οι υπόλοιπες μεταβολές περνούν πρώτα από μια λανθάνουσα περίοδο μέχρι να εκδηλωθούν κλινικά. Οι εξάψεις μπορεί να εμφανιστούν ήδη από το τέλος της προεμμηνοπαυσιακής περιόδου και να διαρκέσουν για αρκετά χρόνια μετά την εμμηνόπαυση. Τα αγγειοκινητικά συμπτώματα χαρακτηρίζονται από την αίσθηση έντονης θερμότητας και καύσου στο ανώτερο τμήμα του σώματος, συνοδευόμενα από εφίδρωση που διαρκούν συνήθως 1-5 λεπτά.(Rossmanith and Ruebberdt 2009). Η ένταση των εξάψεων και των εφιδρώσεων μπορεί να είναι αρκετά έως πολύ έντονη, με αποτέλεσμα περίπου μια στις πέντε γυναίκες να δυσανασχετούν και να αναζητούν θεραπεία (Rossmanith and Ruebberdt 2009)..

Τα πρώιμα κλιμακτηριακά συμπτώματα επίσης περιλαμβάνουν τις ψυχολογικές διαταραχές και μεταβολές του θυμικού (Schindler 2006, Genazzani, Gambacciani et al. 2007, Vesco, Haney et al. 2007, Bromberger and Kravitz 2011, Λαμπρινουδάκη 2015).

Η ελάττωση των επιπέδων της ενδορφίνης που λαμβάνει χώρα στη μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο παίζει ρόλο στις μεταβολές του θυμικού, την αντίληψη του πόνου και συνεπώς στην ποιότητα ζωής.(Genazzani, Gambacciani et al. 2007). Η ευαισθησία στην εκδήλωση κατάθλιψης κατά τη διάρκεια της περιεμμηνοπαύσεως έχει συσχετιστεί με τη δυσφορία λόγω της εμπειρίας έντονων κλιμακτηριακών συμπτωμάτων, την παρουσία ψυχοκοινωνικών παραγόντων, τα κοινωνικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά, τον τρόπο ζωής και το ατομικό ιστορικό ψυχιατρικών διαταραχών (Bromberger and Kravitz 2011). Σε κάθε περίπτωση, οι μέχρι σήμερα έρευνες δεν έχουν κατορθώσει να αποσαφηνίσουν το πρότυπο κατά το οποίο η

εμμηνόπαυση επιβαρύνει την ψυχοπαθολογία των μεσήλικων γυναικών (Vesco, Haney et al. 2007).

### **E. Τα χρόνια προβλήματα της ηλικίας και η σχέση με την εμμηνόπαυση.**

Τα σημαντικότερα χρόνια προβλήματα υγείας που φαίνεται να σχετίζονται με τις ορμονολογικές αλλαγές της μετάβασης στην εμμηνόπαυση είναι η καρδιαγγειακή νόσος, οστεοπόρωση, το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης και η σαρκοπενία.

#### *E.1. Καρδιαγγειακή νόσος και η εμμηνόπαυση*

Στην Ευρώπη η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί τεκμηριωμένη αιτία θανάτου στο 57% των γυναικών και ανδρών αθροιστικά (Collins, Rosano et al. 2007, Evangelista and McLaughlin 2009). Η ηλικιοεξαρτώμενη αύξηση στην επίπτωση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας της γυναίκας φαίνεται να συμπίπτει με την ηλικία διακοπής της ωοθηκικής λειτουργίας δυσανάλογα σε σύγκριση με την αντίστοιχη ηλικιοεξαρτώμενη μεταβολή στους άνδρες (Collins, Rosano et al. 2007, Evangelista and McLaughlin 2009). Η σχέση της εμμηνόπαυσης με την επίπτωση της στεφανιαίας νόσου έχει ήδη καταδειχθεί από το 1976, ύστερα από τις παρατηρήσεις των ερευνητών της μελέτης Framingham (Kannel, Hjortland et al. 1976). Σχεδόν 5 δεκαετίες αργότερα, η καρδιαγγειακή νόσος συνεχίζει να αποτελεί το πιο σοβαρό αλλά παραμελημένο πρόβλημα υγείας για τις γυναίκες παγκοσμίως, σύμφωνα με δεδομένα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Schenck-Gustafsson, Brinca et al. 2011).

Η απώλεια των ενδογενών οιστρογόνων και της καρδιοπροστατευτικής τους δράσης έχει συσχετιστεί με άμεση και έμμεση επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα των

γυναικών (Cignarella, Kratz et al. 2010, Goodman, Cobin et al. 2011, Nappi, Chedraui et al. 2022). Σύμφωνα με τα δεδομένα πειραματικών μελετών, η άμεση βιολογική δράση των οιστρογόνων επιτυγχάνεται μέσω σύνδεσης με τους πυρηνικούς υποδοχείς οιστρογόνων τύπου α και β (Cignarella, Kratz et al. 2010, Goodman, Cobin et al. 2011). Ειδικότερα για το καρδιαγγειακό σύστημα, οιστρογονικοί υποδοχείς έχουν διαπιστωθεί σε ενδοθηλιακά κύτταρα, καρδιακά μυϊκά και λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων (Cignarella, Kratz et al. 2010, Goodman, Cobin et al. 2011). Η αλληλεπίδραση του οιστρογονικού μορίου με τον αντίστοιχο υποδοχέα τύπου άλφα σε ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα επάγει την ενεργοποίηση πυρηνικών και εξωπυρηνικών μηχανισμών. Οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν τελικά στην παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου, ενός διαμεσολαβητή που ασκεί αγγειοδιασταλτική και αντιθρομβωτική δράση (Cignarella, Kratz et al. 2010, Goodman, Cobin et al. 2011). Παράλληλα, η πρόσδεση του οιστρογονικού μορίου σε εξωπυρηνικούς και πυρηνικούς υποδοχείς των αγγειακών κυττάρων επάγει την άμεση αντιφλεγμονώδη δράση τους (Goodman, Cobin et al. 2011).

Η έμμεση δράση των οιστρογόνων ενέχεται στη δυνατότητα τους να τροποποιούν ευεργετικά τους τροποποιήσιμους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Τα οιστρογόνα συμμετέχουν στη διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης από το πάγκρεας, καθώς και στην προστασία των β-κυττάρων από απόπτωση (Cignarella, Kratz et al. 2010). Παράλληλα, τα οιστρογόνα ασκούν ήπια αντιφλεγμονώδη δράση στο λιπώδη ιστό, παρεμβαίνοντας κατασταλτικά στην εκδήλωση μεταβολικών επιπλοκών (Cignarella, Kratz et al. 2010). Επιπρόσθετα, τα οιστρογόνα εμπλέκονται στην έκφραση και στη δραστηριότητα των μεταφορέων της γλυκόζης που ανευρίσκονται στους μύς (Cignarella, Kratz et al. 2010).

Μετά την παύση της ωοθηκικής λειτουργίας και κατά την έναρξη της εμμηνόπαυσης, οι σχετικές ορμονικές αλλαγές σχετίζονται με την επιβάρυνση του καρδιομεταβολικού προφίλ που παρατηρείται στις γυναίκες μέσης ηλικίας (Armeni and Lambrinouadaki 2022). Πιο αναλυτικά, η εμμηνόπαυση καθώς και η προοδευτική αύξηση της ηλικίας σχετίζεται με ελάττωση στα επίπεδα οιστρογόνων και της sex hormone binding globulin (SHBG, σφαιρίνη δεσμέουσα τις ορμόνες του φύλου) καθώς και αύξηση στο λόγο ανδρογόνων προς οιστρογόνα. Οι άμεσες συνέπειες περιλαμβάνουν την εκδήλωση υπερανδρογοναιμίας, αντοχής στην ινσουλίνη, κεντρικής παχυσαρκίας και ανεπαρκής λύσης του ινωδογόνου (Armeni and Lambrinouadaki 2022). Οι επιπτώσεις αυτές ευνοούν την εκδήλωση μεταβολικής δυσλειτουργίας, οξειδωτικού στρες, χρόνια φλεγμονή ήπιας έντασης και τελικά ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και αθηροσκλήρωση (Armeni and Lambrinouadaki 2022).

### *E.2. Η οστική νόσος και η εμμηνόπαυση*

Η μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια είναι ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα υγείας στη σύγχρονη κοινωνία (Genazzani, Gambacciani et al. 2007, Kanis, Cooper et al. 2019). Σύμφωνα με τις τρέχουσες εκτιμήσεις, ο αθροιστικός κίνδυνος καταγμάτων σε γυναίκες διαγνωσμένες με μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση είναι μεγαλύτερος από 40%, ενώ ο κίνδυνος κατάγματος ισχίου για μια γυναίκα 50 ετών εκτιμάται ως 20% στις αναπτυγμένες χώρες (Genazzani, Gambacciani et al. 2007, Brincaat, Calleja-Agius et al. 2011).

Σύμφωνα με τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), η διάγνωση της οστεοπόρωσης βασίζεται στις μετρήσεις της οστικής πυκνότητας. Η μέτρηση αυτή δύναται να πραγματοποιηθεί μέσω της διπλοενεργειακής απορροφησιομετρίας ακτίνων X (dual Energy X-ray absorptiometry, DXA) (Brincaat, Calleja-Agius et al. 2011, Kanis, Oden et al. 2012, Kanis, Cooper et al. 2019, Makras,

Anastasilakis et al. 2019). Τα κριτήρια του ΠΟΥ για διαβάθμιση της οστικής νόσου αναλύονται παρακάτω:

Φυσιολογικό οστό, T-score > -1

Οστεοπενία, T-score μεταξύ -1 και -2.5

Οστεοπόρωση, T-score μικρότερο του -2.5

Εγκατεστημένη (σοβαρή) οστεοπόρωση, T-Score μικρότερο του -2.5 και παρουσία κατάγματος χαμηλής ισχύος.

Σύμφωνα με τη σχετική τεχνογνωσία ανάλυσης των αποτελεσμάτων της οστικής απορροφησιμετρίας, το T-score ορίζεται ως ο αριθμός των σταθερών αποκλίσεων από τη μέση τιμή της οστικής πυκνότητας νέων ενηλίκων, προσαρμοσμένο για την εθνικότητα και το φύλο (Brincat, Calleja-Agius et al. 2011, Makras, Anastasilakis et al. 2019).

Σε μια προσπάθεια έγκαιρης διάγνωσης της οστικής έχουν αναπτυχθεί ηλεκτρονικοί αλγόριθμοι, η χρήση των οποίων έχει γίνει αρκετά δημοφιλής στην κλινική πράξη (Brincat, Calleja-Agius et al. 2011, Makras, Anastasilakis et al. 2019) Ο αλγόριθμος FRAX ([www.shef.ac.uk/FRAX/](http://www.shef.ac.uk/FRAX/)) παρέχει αξιόπιστη εκτίμηση του 10-ετούς κινδύνου οστεοπορωτικού κατάγματος, ύστερα από συνεκτίμηση κλινικών παραγόντων κινδύνου καθώς και την τιμή της οστικής πυκνότητας στον αυχένα του μηριαίου, εάν η μέτρηση είναι διαθέσιμη (Kanis 2008, Brincat, Calleja-Agius et al. 2011, Makras, Anastasilakis et al. 2019). Οι κλινικοί παράγοντες κινδύνου που περιλαμβάνονται στο αλγόριθμο FRAX είναι οι εξής: ηλικία, φύλο, δείκτης μάζας σώματος, προσωπικό ιστορικό κατάγματος, έκθεση σε αγωγή με στεροειδή, διαγνωσμένη ρευματοειδή αρθρίτιδα, παρουσία δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης, οικογενειακό ιστορικό κατάγματος ισχίου, κάπνισμα και κατανάλωση αλκοόλ (Kanis 2008, Brincat, Calleja-Agius et al. 2011, Makras, Anastasilakis et al. 2019). Μέχρι

σήμερα, η αξία του προληπτικού διαγνωστικού ελέγχου για την παρουσία οστεοπόρωσης κατά την έναρξη της εμμηνόπαυσης, παραμένει αμφιλεγόμενη (Messier, Rabasa-Lhoret et al. 2011)

### *E3. Ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης*

Το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης αναφέρεται σε μια ομάδα συμπτωμάτων που μπορεί να εκδηλώσει μια γυναίκα μέσης ηλικίας (π.χ. δυσπαρεύνια, ξηρότητα γεννητικών οργάνων, συχνή ή επιτακτική ούρηση, αιμορραγία μετά την επαφή, ερεθισμός του αιδοίου και/ή του κόλπου και ελαττωμένη σεξουαλική επιθυμία. Τα συμπτώματα αυτά είναι ενοχλητικά, υποβαθμίζουν την ποιότητα της σεξουαλικής υγείας ενώ πρέπει να αναζητούνται κατά τη διάρκεια της κλινικής αξιολόγησης καθώς υπάρχουν αποτελεσματικές στρατηγικές αντιμετώπισης (Portman and Gass 2014, Armeni, Lambrinouadaki et al. 2016).

### *E.4. Η σαρκοπενία*

Οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν μείωση της μυϊκής μάζας και της λειτουργίας που είναι γνωστή ως σαρκοπενία (Cruz-Jentoft, Bahat et al. 2019). Το εάν η εμμηνόπαυση ενέχει κίνδυνο σαρκοπενίας ανεξάρτητα από τη γήρανση δεν είναι σαφώς καθορισμένο, αν και πειραματικά δεδομένα δείχνουν μια προστατευτική επίδραση της οιστραδιόλης στους μύες (Messier, Rabasa-Lhoret et al. 2011) Εκτός από τη μείωση των στεροειδών σεξουαλικών ορμονών, η μειωμένη σωματική δραστηριότητα και οι αλλαγές στις διατροφικές συνήθειες —συχνά συμπεριλαμβανομένης της μειωμένης πρόσληψης πρωτεϊνών— συμβάλλουν στη σαρκοπενία (Messier, Rabasa-Lhoret et al. 2011, Cruz-Jentoft, Bahat et al. 2019). Τα οιστρογόνα και άλλες στεροειδείς ορμόνες είναι βασικοί ελεγκτές της κυτταρικής συστατικότητας και κίνησης, κυρίως μέσω της στρατολόγησης ταχέων

ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών σημάτων που ενεργοποιούνται από υποδοχείς οιστρογόνων που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη (Simoncini, Hafezi-Moghadam et al. 2000). Τέτοιες δράσεις ενεργοποιούνται επίσης στα μυϊκά κύτταρα και η μείωση των συγκεντρώσεων οιστρογόνων στην εμμηνόπαυση θα μπορούσε να επηρεάσει άμεσα τον μεταβολισμό και την απόδοση των μυών παρεμβαίνοντας στις αλληλεπιδράσεις μυοσίνης-ακτίνης (Lowe, Baltgalvis et al. 2010).

Η απώλεια μυϊκής μάζας πιθανώς διευκολύνεται από τη μειωμένη έκκριση της αυξητικής ορμόνης και του αυξητικού παράγοντα 1 που μοιάζει με ινσουλίνη που σχετίζεται με την εμμηνόπαυση, και οι δύο είναι βασικοί παράγοντες για τη διατήρηση της μυϊκής μάζας και δύναμης (Cosma, Bailey et al. 2008, Veldhuis, Erickson et al. 2016). Η προοδευτική μείωση των συγκεντρώσεων της αυξητικής ορμόνης στο αίμα μετά την εμμηνόπαυση ευθύνεται για ετήσια μείωση 1-1,5% της μυϊκής μάζας στις γυναίκες και για ταυτόχρονη αύξηση του σπλαχνικού λίπους (Anagnostis, Bitzer et al. 2020, El Khoudary, Nasr et al. 2022). Το αυξημένο σπλαχνικό λίπος και οι προφλεγμονώδεις αδιποκίνες που προέρχονται από λίπος και το οξειδωτικό στρες ευνοούν τον καταβολισμό των μυών, οδηγώντας τελικά σε μείωση της μυϊκής δύναμης, της κινητικότητας και της σωματικής απόδοσης στις μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (Kurina, Gulati et al. 2004, Bondarev, Finni et al. 2021).

### **ΣΤ. Αμυλοειδές και καρδιαγγειακή νόσος**

Το αμυλοειδές-β (Αβ) έχει πρόσφατα προταθεί ότι εμπλέκεται στην παθογένεση της στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης (Stamatelopoulos, Sibbing et al. 2015). Η ενοχοποίηση του Αβ στην παθοφυσιολογία της ισχαιμίας του μυοκαρδίου θα μπορούσε να βοηθήσει πολύ στον εντοπισμό ατόμων με υψηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν οξύ έμφραγμα του



μυοκαρδίου (ΟΜΙ) με κακή πρόγνωση, οδηγώντας τελικά στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών για τη μείωση του κινδύνου στεφανιαίας νόσου (ΣΝ) και στη βελτίωση της πρόγνωση των ασθενών με έμφραγμα. Τα πεπτίδια Αβ είναι ως επί το πλείστον γνωστά για τον παθογόνο ρόλο τους στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), που οδηγεί στη νόσο του Αλτσχάιμερ (AD). Είναι ενδιαφέρον ότι νέα στοιχεία για τη συμμετοχή του Αβ σε καρδιαγγειακές παθήσεις οδήγησαν στην ανάπτυξη μιας υπόθεσης διασταυρούμενης επικοινωνίας εγκεφάλου-καρδιάς (brain–heart crosstalk). Παρά το γεγονός ότι είναι γνωστό ότι η AD και η ΣΝ μοιράζονται διάφορους παράγοντες κινδύνου, όπως η υπέρταση, ο διαβήτης, η δυσλιπιδαιμία, η παχυσαρκία και το κάπνισμα, ο ακριβής επιπολασμός της ΣΝ μεταξύ των ασθενών με AD δεν έχει περιγραφεί και στοιχεία πιθανής κοινής παθογένειας αυτών των δύο καταστάσεων είναι ακόμα θέμα μελέτης (Troncone, Luciani et al. 2016).

Τα Αβ είναι πεπτίδια που δημιουργούνται από τη διαδοχική πρωτεολυτική διάσπαση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) μέσω της δραστηριότητας της β- και γ-εκκριτάσης. Συγκεκριμένα, τα Αβ1-40 και Αβ1-42 είναι τα πιο σημαντικά από παθοφυσιολογική άποψη (Coronel, Bernabeu-Zornoza et al. 2018). Το Αβ παίζει φυσιολογικό ρόλο στο ΚΝΣ (Dawkins and Small 2014) και οι αλλαγές στη σύνθεση, την επεξεργασία και την κάθαρσή του μπορεί να οδηγήσουν σε διαφορετικές παθολογίες. Συνήθως, το Αβ απομακρύνεται από το ΚΝΣ με ενζυμική αποδόμηση (π.χ. νεπριλυσίνη) μέσω του κυκλοφορικού συστήματος ή της γλυμφατικής οδού (Tarasoff-Conway, Carare et al. 2015, Hendrikx, Smits et al. 2019). Το Αβ διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και εισέρχεται στα αιμοφόρα αγγεία μέσω συγκεκριμένων μεταφορέων. Η απολιποπρωτεΐνη Ε (ApoE) δεσμεύει το Αβ με διαφορετική συγγένεια ανάλογα με τις ισομορφές και επιτρέπει τη διέλευση του Αβ στο αίμα μέσω μηχανισμών που διαμεσολαβούνται από τον υποδοχέα λιποπρωτεΐνης χαμηλής

πυκνότητας (LDLR) και την πρωτεΐνη 1 (LRP1) που σχετίζεται με τον LDLR (Bachmeier, Shackleton et al. 2014). Το Αβ μπορεί επίσης να μεταφερθεί διαμέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) ως ελεύθερο μονομερές μέσω της Ρ-γλυκοπρωτεΐνης (Chiu, Miller et al. 2015).

Η παραγωγή APP και Αβ έχει τεκμηριωθεί σε πολλούς ιστούς εκτός από το ΚΝΣ, όπως μυς, δέρμα, λιπώδη ιστό, έντερο (Puig and Combs 2013), ενδοθήλιο και καρδιά (Jarre, Gowert et al. 2014) και φαίνεται ότι η αφθονία του κυκλοφορούντος Αβ θα μπορούσε να συνδέεται με παθολογίες διαφορετικές από την AD, όπως η αθηροσκλήρωση (Stamatelopoulos, Sibbing et al. 2015). Από την άλλη πλευρά, αν και η έκφραση της APP είναι καλά τεκμηριωμένη στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα καρδιομυοκύτταρα, ο φυσιολογικός και παθολογικός της ρόλος στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι ελάχιστα κατανοητός (Krämer, Brettschneider et al. 2018). Ωστόσο, η APP μπορεί να συμμετέχει στον σχηματισμό αθηρώματος και στη θρόμβωση - δύο βασικοί μηχανισμοί στην παθοφυσιολογία της ΣΝ (SenBanerjee, Lin et al. 2004).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ευαίσθητα σε βιοχημικά, φλεγμονώδη φυσικά ερεθίσματα που επιτρέπουν την αυτορρύθμιση των αιμοφόρων αγγείων σε περίπτωση διακυμάνσεων της ροής του αίματος (SenBanerjee, Lin et al. 2004). Αυτοί οι λεπτοί μηχανισμοί μπορούν να διαταραχθούν από εξωτερικούς παράγοντες, οδηγώντας στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης (Papafaklis, Takahashi et al. 2015). Συγκεκριμένα, οι διακυμάνσεις της ροής του αίματος επάγουν τον επαγόμενο από υποξία παράγοντα-1α (HIF-1α), ο οποίος αυξάνει τη διαπερατότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων και προάγει τη συσσώρευση λιπιδίων εντός του έσω χιτώνα των αγγείων - ένας μηχανισμός που μπορεί να διαδραματίσει βασικό ρόλο στην έναρξη του σχηματισμού αρτηριοσκληρωτικής πλάκας (Feng, Bowden et al. 2017). Επιπλέον, η ταλαντωτική διατμητική τάση (oscillatory shear stress) αυξάνει τη δραστηριότητα μεταγραφικών

παραγόντων όπως το HIF-1α, πυρηνικός παράγοντας ενισχυτής της κ-ελαφράς αλυσίδας των ενεργοποιημένων Β κυττάρων (NF-κΒ), το GATA-1, το GATA-4 καθώς και τις κυτοκίνες (π.χ. παράγοντας νέκρωσης όγκου-α, TNF-α), οι οποίοι ρυθμίζουν τη μεταγραφή του BACE1 (Garcia-Cardena, Comander et al. 2001, Lange-Dohna, Zeitschel et al. 2003, Thilo, Vorderwülbecke et al. 2012, Deng, Zhang et al. 2017, Salminen, Kauppinen et al. 2017, Kwak, Hong et al. 2018).

Ο σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας μπορεί να περιγραφεί ως μια διαδικασία τεσσάρων σταδίων: έναρξη, προώθηση, εξέλιξη και εκφυλισμός. Το Αβ υπονοείται όχι μόνο στην έναρξη του σχηματισμού πλάκας αλλά και σε άλλα στάδια ανάπτυξης της πλάκας. Έχει αποδειχθεί ότι το Αβ1-40 ευνοεί την εναπόθεση και την οξείδωση των λιπιδίων στα αγγεία, διεγείροντας την έναρξη της αρτηριοσκλήρωσης (Puglielli, Friedlich et al. 2005). Η ApoE και, ειδικότερα, η ισομορφή της ApoE4, η οποία υπονοείται στον σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας, έχει χαμηλότερη συγγένεια με το Αβ από άλλες ισομορφές, προκαλώντας έτσι μείωση της κάθαρσης του Αβ μέσω LDLR και LRP1, προάγοντας έτσι τη συσσώρευσή του στις αθηρωματικές πλάκες (Kim, Basak et al. 2009). Τα μακροφάγα, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας στη λεγόμενη «φάση προώθησης», φαγοκυτταρώνουν την APP, η οποία στη συνέχεια επεξεργάζεται από το BACE1, αυξάνοντας τόσο τα τοπικά όσο και τα κυκλοφορούντα επίπεδα του Αβ καθώς και διεγείροντας την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου και μεταλλοπρωτεασών (Gervais, Xu et al. 1999, Pellegrini, Passer et al. 1999). Η

παρουσία του Αβ στις αθηρωματικές πλάκες ενισχύεται, επίσης, από το υποξικό περιβάλλον, το οποίο προάγει τη σταθεροποίηση του HIF-1α, το οποίο με τη σειρά του αυξάνει την επεξεργασία του Αβ στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα δεσμεύοντας το στοιχείο που ανταποκρίνεται στην υποξία (HRE) στον υποκινητή του γονιδίου BACE1 (Prabhakar and Semenza 2012). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το

Αβ ευνοεί τη συσσώρευση και την αποκοκκίωση των αιμοπεταλίων, παρέχοντας περαιτέρω ώθηση στην εξέλιξη της πλάκας (Song, Ao et al. 2013, Kucheryavykh, Dávila-Rodríguez et al. 2017). Το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός αθηρώματος στις στεφανιαίες αρτηρίες που στενεύει τον αυλό και μειώνει την παροχή οξυγόνου και αίματος στον τελικό ιστό, ο οποίος γίνεται ισχαιμικός (Prabhakar and Semenza 2012). Η ισχαιμία οδηγεί σε θάνατο των ενδοθηλιακών κυττάρων, εκφύλιση και ρήξη της πλάκας, σχηματισμό θρόμβων και επακόλουθη έκθεση του κολλαγόνου. Επιπλέον, η ισχαιμία προάγει τον σχηματισμό εξωκυτταρικών παγίδων ουδετερόφιλων (NETs). Όλα αυτά τα συμβάντα μπορούν, επίσης, να οδηγήσουν στην απελευθέρωση του ενδοκυτταρικού Αβ1-40, το οποίο μπορεί να ακινητοποιηθεί γρήγορα στο εκτεθειμένο κολλαγόνο και τα NETs, προκαλώντας εξωκυτταρικές εναποθέσεις αμυλοειδούς (Azevedo, Guimarães-Costa et al. 2012, Canobbio, Catricalà et al. 2013, Abubaker, Vara et al. 2019).

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναγνωρίσει την ενδοκυτταρική συσσώρευση του Αβ1-40 σε ενδοθηλιακά κύτταρα και καρδιομυοκύτταρα ως άμεση αιτία κυτταροτοξικότητας (Greco, Zaccagnini et al. 2017) παρόμοια με αυτή που έχει παρατηρηθεί σε νευρώνες ασθενών που έχουν προσβληθεί από CAA (Rhodin and Thomas 2001, Tamagno, Bardini et al. 2002, Gonzalez-Velasquez and Moss 2008). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα καρδιομυοκύτταρα που εκτίθενται στο Αβ1-40 εκδηλώνουν αλλαγές στο μεταγραφικό τους προφίλ, ιδιαίτερα σε γονίδια που σχετίζονται με το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος, την απόπτωση, τη βλάβη του DNA και τη φλεγμονή (Tan, Town et al. 1999, Greco, Zaccagnini et al. 2017, Salminen, Kauppinen et al. 2017). Οι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν την απορρύθμιση της έκφρασης και της δραστηριότητας του BACE1, που οδηγεί στη συσσώρευση του Αβ1-40 στα καρδιομυοκύτταρα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, δεν είναι ακόμη κατανοητοί (Greco,

Zaccagnini et al. 2017). Φαίνεται ότι όλοι οι καθιερωμένοι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου σχετίζονται με την υπερέκφραση του BACE1 και την υπερπαραγωγή του Αβ1-40 που, σε ηλικιωμένα άτομα, δεν εξουδετερώνεται από τη δράση του πρωτεασώματος λόγω της χαμηλότερης αποτελεσματικότητας του συστήματος λόγω της ηλικίας (Lange-Dohna, Zeitschel et al. 2003, Christensen, Zhou et al. 2004, Ge, Maloney et al. 2004, Sun, He et al. 2006, Cho, Kim et al. 2007, Buggia-Prevot, Sevalle et al. 2008, Salminen, Kauppinen et al. 2017, Kwak, Hong et al. 2018). Επιπλέον, η ενδοκυτταρική συσσώρευση του Αβ1-40, ιδιαίτερα στον αυλό του ενδοπλασματικού δικτύου (ER), επιδεινώνει τη δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων, οδηγώντας στη στρατολόγηση μονοκυττάρων και στη συσσώρευση λιπιδίων.

Όπως περιγράφηκε προηγουμένως, το Αβ συσσωματώνεται σε εξωκυτταρικό επίπεδο στην αμυλοειδική εγκεφαλική αγγειοπάθεια. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν στοιχεία για εξωκυτταρικά συσσωματώματα Αβ στις στεφανιαίες αρτηρίες. Ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι αυτός ο μηχανισμός συμβάλλει, επίσης, στην ανάπτυξη της νόσου. Το ενδοκυτταρικό Αβ1-40, που απελευθερώνεται μετά τον θάνατο των ενδοθηλιακών κυττάρων, θα μπορούσε να ακινητοποιηθεί γρήγορα πάνω στο εκτεθειμένο κολλαγόνο και τα NETs, προκαλώντας εξωκυτταρικές εναποθέσεις αμυλοειδούς (Friedrich, Terper et al. 2010, Azevedo, Guimarães-Costa et al. 2012, Canobbio, Catricalà et al. 2013). Με τη σειρά τους, οι εξωκυτταρικές εναποθέσεις αμυλοειδούς θα μπορούσαν να επιδεινώσουν τη φλεγμονή και την ενδοθηλιακή βλάβη και να αυξήσουν τον σχηματισμό θρόμβων, οδηγώντας έτσι σε μυοκαρδιακή υποξία και δυσλειτουργία. Σε αυτό το σενάριο, η παρατεταμένη ισχαιμική κατάσταση θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη ΣΝ ανεξάρτητα από τη στεφανιαία αθηροσκλήρωση.

Παραδόξως, η αποκατάσταση της ροής του αίματος μετά από ένα ισχαιμικό συμβάν μπορεί να επιδεινώσει την κυτταρική δυσλειτουργία και ένα ευρύ φάσμα ιστικής

βλάβης. Αυτή η κατάσταση είναι γνωστή ως βλάβη ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (IRI). Το IRI είναι μια πολύπλοκη πολυπαραγοντική διαδικασία που μπορεί να επηρεάσει όχι μόνο το ισχαιμικό όργανο, αλλά και απομακρυσμένα όργανα (Granger and Kvietys 2015). Λόγω των δυσμενών επιπτώσεων της ισχαιμίας-επαναδιάχυσης, έχει μεγάλο ενδιαφέρον να διευκρινιστούν οι μοριακός συντελεστές της: σε αυτό το πλαίσιο, όπως περιγράφεται παρακάτω, το Αβ αναδύεται ως νέος παράγοντας. Η αποκατάσταση του φυσιολογικού pO<sub>2</sub> μετά την επαναιμάτωση σχετίζεται με αύξηση των δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και των δραστικών ειδών αζώτου (RNS), υπεροξειδωση λιπιδίων, ενισχυμένη έκφραση πρωτεϊνών προσκόλλησης, μιτοχονδριακή και ενδοκυτταροπλασματική συσσώρευση Ca<sup>2+</sup>, δυσλειτουργία ενδοθηλιακών κυττάρων, φλεγμονή, θρόμβωση, μείωση του μονοξειδίου του αζώτου (NO) και τελικά τον κυτταρικό θάνατο (Khanna, Cowled et al. 2005, Siriussawakul, Zaky et al. 2010, Kalogeris, Baines et al. 2012). Επιπλέον, η επαναιμάτωση σχετίζεται με την αυξημένη παραγωγή ορισμένων βασικών μεταγραφικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των AP-1 (Yin, Lee et al. 2002), HIF-1<sup>α</sup> (Abe, Semba et al. 2017) και NF-κB (Garcia-Cardena, Comander et al. 2001). Όλοι αυτοί οι μεταγραφικοί παράγοντες σχετίζονται με την επεξεργασία APP και την παραγωγή Αβ (Safronova and Morita 2010), οδηγώντας σε αύξηση της συγκέντρωσης του Αβ1-40 στους εξωκυτταρικούς και ενδοκυτταρικούς χώρους (Pluta 2002). Επιπλέον, η ισχαιμία-επαναιμάτωση επάγει μια συστηματική απελευθέρωση αρκετών κυτοκινών (π.χ. TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8 και παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF)) (Lutz, Thürmel et al. 2010), προκαλώντας την ανάπτυξη κατάστασης συστηματικής φλεγμονής. Κατά συνέπεια, αυτή η φλεγμονή ευνοεί την αύξηση της έκφρασης της APP και οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή Αβ και μειωμένη πρόσληψη/αποδόμηση του Αβ (Alasmari, Alshammari et al. 2018). Έχει, επίσης, παρατηρηθεί ότι, μετά την επαναιμάτωση, η αυξημένη

ενδοκυτταρική συγκέντρωση  $Ca^{2+}$  μπορεί να διεγείρει την εναπόθεση του κυτταροπλασματικού Αβ, το οποίο αλλάζει την κυτταρική ακεραιότητα και οδηγεί σε απόπτωση μέσω του σχηματισμού μη ειδικών πόρων στην πλασματική μεμβράνη (Itkin, Dupres et al. 2011). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι το AMI και η επαναιμάτωση εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις διεργασίες, απόπτωση και οξειδωτικές διεργασίες (Ding, Liu et al. 2015, Ding, Liu et al. 2015, Ding, Liu et al. 2016).

## **Z. Υπόθεση αλληλεπίδρασης μορίων αμυλοειδούς με υποκλινική αγγειακή νόσο**

Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι συνδέουν την αγγειακή νόσο και τη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (όπως διαπιστώνεται στην παχυσαρκία, τον διαβήτη και την υπερχοληστερολαιμία, δηλαδή το μεταβολικό σύνδρομο) με τη νόσο του Alzheimer (AD) και τη γνωσιακή ελάττωση, μέσω πολλών κοινών παραγόντων κινδύνου (de Bruijn and Ikram 2014). Πράγματι, η γνωστική έκπτωση και η ΝΑ σχετίζονται με την εγκεφαλοαγγειακή και στεφανιαία αθηροσκλήρωση στον άνθρωπο και τα άτομα με AD παρουσιάζουν παθολογικά σημεία αγγειακής βλάβης στα εγκεφαλικά και περιφερειακά αγγεία, υποδεικνύοντας κάποιο κοινό τόπο μεταξύ των μηχανισμών περιφερικής και κεντρικής νόσου (Attems and Jellinger 2014). Επιπλέον, η αγγειακή δυσλειτουργία εμφανίζεται νωρίς στην εξέλιξη της AD, που συχνά αναφέρεται δεκαετίες πριν από την ανάπτυξη κλινικών συμπτωμάτων άνοιας (Wiesmann, Kiliaan et al. 2013). Πρόσφατη εργασία έχει δείξει μια ενδιαφέρουσα σύνδεση μεταξύ ενός από τα πρώιμα βιοχημικά συμβάντα που σχετίζονται με την AD και τη δυσλειτουργία των εγκεφαλικών αιμοφόρων αγγείων. Η πρωτεολυτική διάσπαση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) από το ένζυμο, το ένζυμο διάσπασης της β-θέσης APP 1 (BACE1), είναι το στάδιο περιορισμού του ρυθμού και ένας από τους κύριους οδηγούς για την παραγωγή πεπτιδίων β-αμυλοειδούς (Αβ). Η υπερβολική συσσώρευση

του Αβ έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση σε αμυλοειδείς πλάκες, μια χαρακτηριστική παθολογία της AD. Αυξημένη έκφραση πρωτεΐνης του APP, BACE1 και αυξημένα επίπεδα πεπτιδίων Αβ (Αβ40 και Αβ42) έχουν αποδειχθεί σε εγκεφαλικά αιμοφόρα αγγεία σε ανθρώπους με AD και είναι ανιχνεύσιμα σε πειραματικά μοντέλα AD πριν από την εμφάνιση της παθολογίας της AD και της γνωστικής έκπτωσης (Iadecola 2004, Iadecola 2005, Attems and Jellinger 2014, Cheng, He et al. 2014)). Επομένως, η αυξημένη παραγωγή APP και η παραγωγή Αβ μπορεί να συνδέονται άμεσα με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στα εγκεφαλικά και περιφερειακά αιμοφόρα αγγεία. Ωστόσο, ο ρόλος της παραγωγής APP και της παραγωγής Αβ στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στην παχυσαρκία και τον διαβήτη δεν είναι ξεκάθαρος.

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία παρατηρείται συχνά σε πειραματικά μοντέλα διαβήτη (Nacci, Tarquinio et al. 2009, Triggle and Ding 2010) και χαρακτηρίζεται, εν μέρει, από εξασθενημένη χαλάρωση με τη μεσολάβηση του μονοξειδίου του αζώτου (με την μεσολάβηση NO). Επιπλέον, ο διαβήτης συνδέεται συνήθως με μικροαγγειακές επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένης της ισχαιμικής καρδιοπάθειας, της περιφερικής αγγειακής νόσου, της αθηροσκλήρωσης και της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, αντιπροσωπεύοντας έως και το 80% της υπερβολικής θνησιμότητας σε ασθενείς με διαβήτη (Haffner, Lehto et al. 1998) Σε κλινικό περιβάλλον, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η οποία ξεκινά νωρίς στην ανάπτυξη του διαβήτη, σχετίζεται έντονα με ανεπιθύμητες εκβάσεις (Xu and Zou 2009) και συμβάλλει στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη, μικροαγγειοπάθεια (Suetsugu, Takebayashi et al. 2007) και αθηροσκλήρωση (Davignon and Ganz 2004). Είναι σημαντικό ότι η εξασθενημένη αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το ενδοθήλιο είναι μετρήσιμη πριν ανιχνευθούν μορφολογικές αλλαγές στο τοίχωμα του αγγείου, υποδεικνύοντας ότι η μειωμένη



παραγωγή και/ή δραστηριότητα NO μπορεί να είναι ένα σημαντικό πρώιμο γεγονός στην αγγειακή παθογένεση.

Τα πεπτίδια Αβ σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι τοξικά για τα κύτταρα του εγκεφάλου και των περιφερικών ενδοθηλίων, προκαλώντας κυτταρική βλάβη, ενισχυμένη αγγειοσύσπαση και ελάττωση της χαλάρωσης που εξαρτάται από το ενδοθήλιο, προάγοντας έτσι την αθηροσκλήρωση και την αγγειακή νόσο (Thomas, Thomas et al. 1996). Αυτές οι δράσεις σχετίζονται με μειωμένη παροχή γλυκόζης, αυξημένη υποξία και οξειδωτικό στρες στη νευροαγγειακή μονάδα και συμβάλλουν σημαντικά στην παθολογία που ορίζει τον νευροεκφυλισμό και την AD. Επιπλέον, το APP και το Αβ ανιχνεύονται σε ανθρώπινες καρωτιδικές πλάκες και αθηροσκληρωτική αορτή (Jans, Martinet et al. 2006), και η υπερέκφραση της APP επιταχύνει (Tibolla, Norata et al. 2010), ενώ η ελαττωμένη παραγωγή προστατεύει εν μέρει από (Van De Parre, Guns et al. 2011), την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης της αορτής σε ποντίκια APOE<sup>-/-</sup>. Μελέτες *ex vivo* και *in vitro* έχουν δείξει ότι τα διαλυτά πεπτίδια Αβ μειώνουν την παραγωγή ενδοθηλιακού NO, δυνητικά με αναστολή της φωσφορυλίωσης της ενδοθηλιακής συνθάσης NO (eNOS) στο Ser1177 (Gentile, Vecchione et al. 2004, Lamoike, Mazzone et al. 2015). Ωστόσο, αυτές οι μελέτες χρησιμοποίησαν υπερβολικά υψηλές (~1 μM) συγκεντρώσεις πεπτιδίων Αβ, ενώ τα επίπεδα *in vivo* που αναφέρθηκαν είναι σημαντικά χαμηλότερα (Roher, Esh et al. 2009, Janelidze, Stomrud et al. 2016) και ποικίλλουν από περίπου 5 έως 800 pg/mL (~1–200 pM) για το Αβ42 και 35 έως 700 pg/mL για το Αβ40 (~9–180 pM) στο πλάσμα. Είναι ενδιαφέρον ότι το eNOS ρυθμίζει την παραγωγή αμυλοειδούς, καθώς η μείωση ή η απώλεια του eNOS σχετίζεται με αυξημένη έκφραση των APP και BACE1 και την παραγωγή πεπτιδίων Αβ, ενώ το εξωγενές NO μειώνει τα επίπεδα APP, BACE1 και Αβ στην εγκεφαλική μικροαγγειακή κυκλοφορία (Austin, d'Uscio et al. 2013). Έτσι, φαίνεται να υπάρχει μια ενδιαφέρουσα

αμοιβαία σύνδεση μεταξύ του BACE1, της παραγωγής APP, των επιπέδων Αβ και της βιοδιαθεσιμότητας NO. Η υπεργλυκαιμία και η υπερλιπιδαιμία αυξάνουν τη δραστηριότητα BACE1 και τα επίπεδα πεπτιδίου Αβ στους ιστούς και το πλάσμα (Refolo, Malester et al. 2000), συνδέοντας βασικούς δείκτες της μεταβολικής νόσου με αυξημένη παραγωγή αμυλοειδούς. Κατά συνέπεια, η ανάπτυξη διαβήτη τύπου 2 (T2D) ή/και παχυσαρκίας αυξάνει τα επίπεδα του κυκλοφορούντος Αβ, γεγονός που με τη σειρά του οδηγεί σε αγγειακή δυσλειτουργία. Μελετήθηκε αυτή η υπόθεση με 3 τρόπους: πρώτον, μειώνοντας τη δραστηριότητα του BACE1 γενετικά και φαρμακολογικά σε ποντίκια και διαπιστώνοντας πώς αυτή η τροποποιημένη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία προκαλείται από τη διατροφή. Δεύτερον, αυξάνοντας τα επίπεδα Αβ στο πλάσμα, έμμεσα μέσω υπερέκφρασης μεταλλαγμένων ανθρώπινων γονιδίων APP και απευθείας με έγχυση πεπτιδίου Αβ, για την προώθηση της αγγειακής δυσλειτουργίας σε ποντίκια και τρίτον, με διασταυρούμενη εξέταση της συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων Αβ στο πλάσμα και της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε ασθενείς με T2D (Meakin, Coull et al. 2020).

## **H. Ο ρόλος της πρωτεΐνη θερμικού σοκ 60 (HSP60)**

Η πρωτεΐνη θερμικού σοκ 60 (HSP60), μια εξέχουσα πρωτεΐνη της οικογένειας HSP, έχει μελετηθεί εξαντλητικά λόγω των καρδιοπροστατευτικών της ιδιοτήτων, οι οποίες περιλαμβάνουν την επεξεργασία μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών, την αντιαποπτωτική δραστηριότητα και τη δυναμοποίηση βασικών μεταγραφικών παραγόντων για τη μιτοχονδριακή βιογένεση και το χειρισμό του ασβεστίου. Παραδόξως, αυτή η ίδια πρωτεΐνη μπορεί επίσης να είναι πηγή φλεγμονής όχι μόνο για τους ιστούς από τους οποίους προέρχεται, αλλά και για τους περιφερειακούς. Έχει αποδειχθεί ότι διεγείρει

τόσο την έμφυτη όσο και την προσαρμοστική ανοσία που συμπεριφέρεται ως μοριακό πρότυπο που σχετίζεται με βλάβη (DAMP) που προκαλεί ισχυρές ανοσολογικές αποκρίσεις που ενεργοποιούν ορισμένους μηχανισμούς φλεγμονής, αναπόσπαστο μέρος της παθοφυσιολογίας των καρδιαγγειακών παθήσεων (CVD) (Knowlton 2017).

Τα HSP είναι μια μεγάλη οικογένεια ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών που έλαβαν το όνομά τους μετά την ανακάλυψη ότι η ανοδική τους ρύθμιση ανταποκρίνεται στο θερμικό σοκ και ο γενικός σκοπός τους είναι να παρέχουν προστασία έναντι αυτής της κατά τα άλλα απειλητικής κατάστασης. Ονομάζονται επίσης μοριακές συνοδούς, ένα όνομα που χρησιμοποιείται συχνά εναλλακτικά με το HSP, ωστόσο ορισμένα HSP δεν έχουν καμία λειτουργία στη συνοδεία και λειτουργούν ως πρωτεΐνες σεληνόφωτου με δευτερεύουσες λειτουργίες που θα συζητηθούν περαιτέρω. Η παραδοσιακή ονοματολογία όριζε κάθε μέλος της με το ακρωνύμιο της οικογένειας ακολουθούμενο από το αντίστοιχο μοριακό τους βάρος. Πριν από μια δεκαετία, οι Kampinga et al. (Kampinga, Hageman et al. 2009) όρισε μια νέα ταξινόμηση σε HSP όπου το HSP60 έλαβε το όνομα HSPD1, ωστόσο αυτή η ταξινόμηση δεν χρησιμοποιείται ευρέως. Είναι ενδιαφέρον ότι οι συνοδευτικές των 60 kDa ταξινομούνται σε δύο διαφορετικές ομάδες σαπερονίνες, ένα όνομα που χρησιμοποιείται εναλλακτικά με το HSP60. Η ομάδα I των σαπερονινών μπορεί να βρεθεί στα μιτοχόνδρια, στην κύρια θέση τους και στους χλωροπλάστες των ευκαρυωτών, αλλά μπορεί να έχει άλλες διαφορετικές θέσεις όπως το κυτοσόλιο, η κυτταρική μεμβράνη και η κυτταρική επιφάνεια (Vilasi, Bulone et al. 2017). Μπορούν επίσης να βρεθούν στο προκαρυωτικό κυτταρόπλασμα (Ansari and Mande 2018). Η ομάδα II των σαπερονινών εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτών καθώς και σε αρχαιοβακτηριακούς μικροοργανισμούς (Ansari and Mande 2018).

Εκτός από μια πολύ καλά διατηρημένη φυλογενετικά πρωτεΐνη, η HSP60 υπάρχει σε ένα ευρύ φάσμα οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων μυκήτων, φυτών, βακτηρίων και θηλαστικών (Bozner 1997, Okamoto, Ishida et al. 2015). Λόγω αυτού του γεγονότος, υπάρχει σημαντικός βαθμός ομολογίας μεταξύ των ειδών. Για τους προκαρυωτικούς οργανισμούς, σχεδόν το 75% της ταυτότητας της αλληλουχίας είναι κοινό, με ορισμένους επίτοπους να φτάνουν το 90%, ενώ παρατηρείται αντιστοίχιση 50% μεταξύ βακτηριακού και θηλαστικού HSP60 (Grundtman, Kreutmayer et al. 2011, Wick, Jakic et al. 2014, Okamoto, Ishida et al. 2015).

### **Θ. Η σχέση το κυκλοφορούντων ανδρογόνων με την εξέλιξη της υποκλινικής καρδιαγγειακής νόσου**

Σωρευμένα στοιχεία υποδηλώνουν ότι η υψηλότερη ανδρογονικότητα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζεται με ένα προφίλ ανεπιθύμητων παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου και πιθανώς επιταχυνόμενη υποκλινική αρτηριακή νόσο (Armeni and Lambrinouadaki 2022). Η Πολυεθνική Μελέτη της Αθηροσκλήρωσης, που αξιολόγησε 1947 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, διαπίστωσε ότι τα επίπεδα τεστοστερόνης συσχετίζονται θετικά με την καρωτιδική IMT, ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (Ouyang, Vaidya et al. 2009). Σε μια υποανάλυση του πληθυσμού της Πολυεθνικής Μελέτης της Αθηροσκλήρωσης που περιορίστηκε σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αποτιτανώσεις κοιλιακής αορτής, η SHBG συσχετίστηκε αντιστρόφως με την παρουσία και την έκταση της ασβεστοποίησης της κοιλιακής αορτής, ανεξάρτητα από μη λιπιδικούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου (Michos, Vaidya et al. 2008). Επιπλέον, μια υπομελέτη της κόορτης για τον κίνδυνο αθηροσκλήρωσης σε

κοινότητες, συμπεριλαμβανομένων μόνο γυναικών που δεν υποβάλλονται σε ορμονοθεραπεία, ανέφερε σημαντική αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων SHBG και της αθηροσκλήρωσης της καρωτίδας (Golden, Maguire et al. 2002), ένα εύρημα που αναφέρθηκε επίσης για νεαρές προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (Calderon-Margalit, Schwartz et al. 2010). Πέρα από την αρτηριακή αθηροσκλήρωση, η προοδευτικά αυξανόμενη αναλογία ανδρογόνων-οιστρογόνων στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυσιακή απώλεια οιστρογόνων έχει συσχετιστεί με την παθογένεση της μετεμμηνόπαυσιακής υπέρτασης (Khatibi, Agardh et al. 2007, Yanes and Reckelhoff 2011).

Τα ανδρογόνα, επιπλέον, συνδέονται άμεσα με τα τελικά σημεία CVD (He, Yang et al. 2007, Braunstein, Johnson et al. 2008, Patel, Ratcliffe et al. 2009, Laughlin, Goodell et al. 2010). Τα υψηλά επίπεδα κυκλοφορούσας τεστοστερόνης σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες έχουν συσχετιστεί με επιταχυνόμενη στεφανιαία αθηροσκλήρωση (He, Yang et al. 2007), καθώς και με αυξημένο επιπολασμό (Braunstein, Johnson et al. 2008) και επίπτωση (Patel, Ratcliffe et al. 2009, Laughlin, Goodell et al. 2010) της στεφανιαίας νόσου. Αντίθετα, άλλες μελέτες υποστηρίζουν την υπόθεση ότι οι γυναίκες με χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης στην κυκλοφορία έχουν περισσότερη αθηροσκλήρωση της καρωτίδας σε σύγκριση με γυναίκες με υψηλότερα αλλά φυσιολογικά επίπεδα τεστοστερόνης (Maturana, Breda et al. 2008, Ouyang, Vaidya et al. 2009, Laughlin, Goodell et al. 2010, Sievers, Klotsche et al. 2010, Vitale, Fini et al. 2010). Σε μια προσπάθεια να εξηγήσουν τα αντικρουόμενα δεδομένα σχετικά με τη συσχέτιση των ενδογενών ανδρογόνων και της καρδιαγγειακής νόσου, οι Laughlin et al. (Laughlin, Goodell et al. 2010) πρότεινε την υπόθεση ότι, για βέλτιστη καρδιαγγειακή υγεία, τα επίπεδα ανδρογόνων θα πρέπει να είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Τα ακραία κυκλοφορούντα ανδρογόνα, είτε υψηλά είτε χαμηλά,

μπορεί να έχουν αρνητική επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα. Στην 20ετή παρακολούθηση της κοόρτης Rancho Bernardo, οι γυναίκες στο χαμηλότερο και το υψηλότερο πεμπτημόριο βιοδιαθέσιμης τεστοστερόνης είχαν αναλογία πιθανοτήτων 1,79 και 1,96, αντίστοιχα, για την ανάπτυξη συμπτωματικής στεφανιαίας νόσου σε σύγκριση με τις γυναίκες στο μεσαίο πεμπτημόριο (Laughlin, Goodell et al. 2010).

Η υπόθεση ότι τα ανδρογόνα μπορεί να ασκούν προαθηρογονική δράση υποστηρίζεται περαιτέρω από μελέτες σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), μια καλά περιγραφόμενη κατάσταση περίσσειας ανδρογόνων (Lambrinoudaki 2011). Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών έχει συνδεθεί άμεσα με μια προαθηρογόνο κατάσταση, που σχετίζεται με τη μεταγραφή φλεγμονωδών μεσολαβητών που εμπλέκονται στην αθηρογένεση, που σχετίζεται με τον υπερανδρογονισμό, ανεξάρτητα από την παχυσαρκία (González, Rote et al. 2009, González, Rote et al. 2010). Ένας αυξανόμενος όγκος στοιχείων υποδηλώνει ότι αυτές οι γυναίκες έχουν αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου και εγκεφαλοαγγειακής νόσου στα μετεμμηνοπαυσιακά τους χρόνια (Wild, Pierpoint et al. 2000, Krentz, von Mühlen et al. 2007).

Η προαθηρογονική δράση της τεστοστερόνης υποστηρίζεται από πειραματικές και *in vitro* μελέτες. Η έκθεση σε ανδρογόνα σχετίζεται με αυξημένη προσκόλληση μονοπύρηνων κυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο και οξείδωση της LDL από μακροφάγα που προέρχονται από μονοπύρηννα κύτταρα (Zhu, Bonet et al. 1997, McCrohon, Jessup et al. 1999). Η τεστοστερόνη έχει συσχετιστεί με μείωση της αναλογίας ελαστίνης προς κολλαγόνο στην καλλιέργεια κυττάρων λείου μυός της αορτής (Natoli, Medley et al. 2005). Αυτοί οι μηχανισμοί μπορεί να μεσολαβούν στη θετική συσχέτιση της τεστοστερόνης ορού με το πάχος του έσω μέσου χιτώνα των καρωτίδων καθώς και την αρτηριακή σκληρία.

Παράλληλα, χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούσας δευδροεπιανδροστερόνης (DHEAS) συσχετίστηκαν με αυξημένη αρτηριακή ακαμψία. Τα συσσωρευμένα στοιχεία από προγενέστερες μελέτες υποδηλώνουν ότι το DHEAS μπορεί να έχει αγγειοπροστατευτικό ρόλο. Παράγεται κυρίως από τα επινεφρίδια και έως και 20% από τις ωοθήκες, ακόμη και μετά την εμμηνόπαυση (Labrie, Martel et al. 2011), η DHEAS έχει συσχετιστεί ευρέως με ένα αντιπολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα με την αναστολή σημαντικών οδών απόπτωσης, όπως η οδός 3-φωσφοϊνοσιτιδίου – εξαρτώμενη από κινάση/πυρηνικός παράγοντας ενεργοποιημένων T-κυττάρων/ άξονας επαγωγίμου παράγοντα hypoxia (Dumas de la Roque, Savineau et al. 2010). Η δευδροεπιανδροστερόνη έχει βρεθεί ότι είναι ένας ισχυρός αγγειοδιασταλτικός παράγοντας επειδή έχει αναφερθεί ότι αυξάνει την ενδοθηλιακή σύνθεση του NO ενισχύοντας την έκφραση και τη σταθεροποίηση της ενδοθηλιακής συνθάσης NO (Orshal and Khalil 2004, Pérez-López, Larrad-Mur et al. 2010). Τέλος, σε μια άλλη μελέτη, η δευδροεπιανδροστερόνη μείωσε τον πολλαπλασιασμό και αύξησε την απόπτωση των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* (Bonnet, Paulin et al. 2009, Dumas de la Roque, Savineau et al. 2010). Σε κλινικούς λόγους, βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων DHEAS και της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε πληθυσμό μετά την εμμηνόπαυση με γνωστούς στεφανιαίους παράγοντες κινδύνου (Akishita, Hashimoto et al. 2008). Μια πρόσφατη μελέτη σε έναν ηλικιωμένο ιαπωνικό πληθυσμό με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου αποκάλυψε μια προστατευτική επίδραση του DHEAS στο IMT μόνο στους άνδρες, αλλά όχι στις γυναίκες, ενώ το DHEAS συσχετίστηκε με αυξημένη ροή αίματος στην καρωτίδα μόνο στις γυναίκες (Yoshida, Aihara et al. 2010).

## I. Θεραπευτικές επιλογές για τον έλεγχο της καρδιαγγειακής νόσου στην εμμηνόπαυση

Η Ορμονική Θεραπεία Εμμηνόπαυσης (ΜΗΤ) είναι αποτελεσματική στη μείωση των αγγειοκινητικών και των ουροποιητικών συμπτωμάτων που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση, προάγει την υγεία των οστών και, σε πολλές περιπτώσεις, βελτιώνει την ποιότητα ζωής. Η ΘΟΥ είναι επί του παρόντος εγκεκριμένο από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των Ηνωμένων Πολιτειών (ΗΠΑ) για τη θεραπεία των αγγειοκινητικών και ουρογεννητικών συμπτωμάτων, την πρόληψη της οστεοπόρωσης και ως αντικατάσταση οιστρογόνου σε συνθήκες χειρουργικής εμμηνόπαυσης, υπογοναδισμού ή πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας (Baber, Panay et al. 2016, Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022). Οι επιλογές για ΘΟΥ περιλαμβάνουν συζευγμένα αλογίσια ή συνθετικά οιστρογόνα, μικρονισμένη 17β-οιστραδιόλη ή αιθινυλική οιστραδιόλη. Τα προγεσταγόνα ενδείκνυνται για ενδόμικη προστασία σε ασθενείς με μήτρα και περιλαμβάνουν ΜΡΑ, οξική νορεθινδρόνη και προγεστερόνη (Cagnacci and Venier 2019). Επιπροσθέτως, η βαζεδοξιφένη, ένας SERM, μπορεί να συνδυαστεί με το CE για να σχηματίσει ένα σύμπλεγμα επιλεκτικών ιστών οιστρογόνων, παρέχοντας ενδομήτρια προστασία χωρίς τη χρήση προγεσταγόνου (Lobo 2017, Cagnacci and Venier 2019).

Επί του παρόντος, η ΘΟΥ δεν συνιστάται για την πρωτογενή ή δευτερογενή πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου και δεν συνιστάται για γυναίκες με υψηλό κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου (Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022). Ο κίνδυνος CV θα πρέπει να αξιολογείται και να βελτιστοποιείται πριν από την έναρξη της αγωγής. Παράγοντες κινδύνου όπως η παχυσαρκία, το ΣΔ και οι ημικρανίες, μεταξύ άλλων, θα πρέπει να ωθήσουν τους παρόχους να δοκιμάσουν τη διαδερμική ΘΟΥ (Lambrinoudaki, Armeni et al. 2022). Σε ασθενείς που είναι 60 ετών ή > 10 ετών από την εμμηνόπαυση, οι



κίνδυνοι της ΘΟΥ που αναφέρονται παραπάνω υπερτερούν των οφελών και θα πρέπει να δοθεί έμφαση στις αλλαγές στον τρόπο ζωής, αν και η Βορειοαμερικανική Εταιρεία Εμμηνόπαυσης (NAMS) προτείνει να ληφθεί μια συλλογική απόφαση σε ατομική βάση μεταξύ ασθενούς και παρόχου (2015, Sinno, Pinkerton et al. 2020, 2022). Μπορούν να δοκιμαστούν και άλλες φαρμακολογικές επιλογές, συμπεριλαμβανομένων των εκλεκτικών αναστολέων επαναπρόσληψης σεροτονίνης (SSRIs), των αναστολέων επαναπρόσληψης σεροτονίνης-νορεπινεφρίνης (SNRIs), της γκαμπαπεντίνης και της κλονιδίνης.<sup>55</sup> Από τα παραπάνω, μόνο η χαμηλή δόση παροξετίνης (7,5 mg) είναι Εγκεκριμένο από το FDA (2015). Σε ασθενείς με πρωτίστως ουρογεννητικά συμπτώματα, συνιστώνται πρώτα λιπαντικά ή ενυδατικές κρέμες. Εάν αυτά αποτύχουν να βελτιώσουν τα συμπτώματα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν κολπικές ορμονικές θεραπείες (2020).

Πριν από την εξέταση της ΘΟΥ, θα πρέπει να τονιστεί ότι όλες οι γυναίκες χρειάζονται επιθετικό προσδιορισμό και μείωση του παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου κατά τη διάρκεια της ζωής (Lambrinouadaki, Armeni et al. 2022). Οι γενικές συστάσεις για τον τρόπο ζωής περιλαμβάνουν τη συμβουλή στις γυναίκες να σταματήσουν το κάπνισμα, να συμμετέχουν σε μέτρια άσκηση τουλάχιστον 150 λεπτά/εβδομάδα, να καταναλώνουν μια διατροφή πλούσια σε φρούτα και λαχανικά με τροφές ολικής αλέσεως και ψάρια τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα και διατηρείτε δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) <25 ή μέγεθος μέσης <35 ίντσες (Lambrinouadaki, Armeni et al. 2022).

Έχουν επίσης οριοθετηθεί παρεμβάσεις για σημαντικούς ιατρικούς παράγοντες κινδύνου όπως HTN, ΣΔ και δυσλιπιδαιμία. Συνιστάται στις γυναίκες να διατηρούν μια βέλτιστη αρτηριακή πίεση <120/80mmHg και να χρησιμοποιούν κατάλληλη φαρμακοθεραπεία όταν είναι πάνω από 140/90mmHg. Όσον αφορά τα λιπίδια, συνιστάται στις γυναίκες να έχουν στόχο για ρύθμιση των επιπέδων λιποπρωτεΐνης

χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) <100mg/ dl, υψηλής πυκνότητας (HDL-C) >50mg/dl, τριγλυκερίδια <150mg/dl και μη HDL-C<130mg/dl. Η φαρμακευτική θεραπεία για τη μείωση της LDL-C συνιστάται σε συνδυασμό με την τροποποίηση του τρόπου ζωής για την επίτευξη LDL-C<100mg/dl στις περισσότερες γυναίκες και <70mg/dl σε γυναίκες πολύ υψηλού κινδύνου (Lambrinouadaki, Armeni et al. 2022).

Ο κίνδυνος CV στις γυναίκες αυξάνεται τη στιγμή της εμμηνορροϊκής παύσης, πιθανότατα σχετίζεται με συνδυασμό γήρανσης και μετάβασης στην εμμηνόπαυση. Η σωστή αξιολόγηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου είναι επιτακτική για τη βελτίωση των μακροπρόθεσμων εκβάσεων της καρδιαγγειακής νόσου, την καθοδήγηση της θεραπείας μείωσης του κινδύνου και τον προσδιορισμό της ασφάλειας της ΘΟΥ εάν χρειάζεται. Απαιτείται λεπτομερές ιστορικό ανεπιθύμητων εκβάσεων και επιπλοκών εγκυμοσύνης σε όλες τις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αξιολόγηση του οικογενειακού ιστορικού καρδιαγγειακής νόσου, επιπλέον του οποιουδήποτε προσωπικού ιστορικού αυτοάνοσων ή ρευματολογικών διαταραχών και του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) είναι απαραίτητη. Όλοι οι παραδοσιακοί παράγοντες κινδύνου θα πρέπει να αξιολογούνται καθώς και τα τρέχοντα επίπεδα λιπιδικής χοληστερόλης, τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και η αρτηριακή πίεση. Όλες οι γυναίκες πρέπει να λαμβάνουν εκπαίδευση σχετικά με το ιδανικό σωματικό βάρος, μια υγιεινή διατροφή με βάση τα φυτά και τη βέλτιστη ρουτίνα άσκησης.

Η Θεραπεία Ορμονικής Υποκατάστασης (ΘΟΥ) δεν συνιστάται για πρωτογενή ή δευτερογενή πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου ή σε γυναίκες με γνωστή ASCVD (Atherosclerotic Cardiovascular Disease) ή υψηλό κίνδυνο για καρδιαγγειακά συμβάντα. Σε επιλεγμένους πληθυσμούς γυναικών που μπορεί να ωφεληθούν από τις αγγειοκινητικές, ουρογεννητικές και ουρογεννητικές του επιδράσεις στην υγεία των οστών, σε γυναίκες με χαμηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο μπορεί να συνταγογραφηθεί

Ορμονική Θεραπεία Εμμηνόπαυσης (ΜΗΤ) με ασφάλεια μέχρι την ηλικία των 65 ετών. Οι αρχές που διέπουν την ασφαλή χρήση της ΘΟΥ περιλαμβάνουν τη χρήση χαμηλής δόσης ΘΟΥ για τη συντομότερη δυνατή διάρκεια και χρήση SERM και τοπικών σκευασμάτων όπου ενδείκνυται (2022).

Η διαχείριση της εμμηνόπαυσης απαιτεί μια ολοκληρωμένη αξιολόγηση συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κινδύνου χρόνιας νόσου, του τρόπου ζωής και του κατάλληλου ελέγχου και ανάπτυξης ενός εξατομικευμένου σχεδίου που θα ενσωματώνει τους θεραπευτικούς στόχους της γυναίκας και την ανάλυση κινδύνου: οφέλους. Οι επιλογές διαχείρισης περιλαμβάνουν: διαμόρφωση τρόπου ζωής, μη φαρμακολογικές θεραπείες, αντισύλληψη, μη ορμονικές και εμμηνοπαυσιακές ορμονικές θεραπείες.

## **II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **Εμμηνόπαυση και καρδιαγγειακό**

Η εμμηνόπαυση είναι ένα βιολογικό φαινόμενο που συμβαίνει σαν φυσιολογική συνέπεια της γήρανσης, συνεπώς δεν μπορεί να χαρακτηριστεί σαν νόσος. Η μέση ηλικία της εμμηνόπαυσης είναι τα 49-51 έτη και το προσδόκιμο επιβίωσης των γυναικών στις Ευρωπαϊκές χώρες είναι περίπου τα 76-81 έτη, συνεπώς οι περισσότερες γυναίκες θα ζήσουν ένα μεγάλο μέρος της ζωής τους στην μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο (Nappi, Chedraui et al. 2022). Στην εμμηνόπαυση η δεξαμενή των ωοθυλακίων έχει πλέον εξαντληθεί και η παραγωγή οιστρογόνων έχει μειωθεί. Σε ορισμένες περιπτώσεις η εμμηνόπαυση μπορεί να προκληθεί ιατρογενώς από χειρουργική αφαίρεση των ωοθηκών ή από φαρμακευτική θεραπεία (Davis, Lambrinoudaki et al. 2015).

Η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η θνησιμότητα από τα καρδιαγγειακά νοσήματα αφορά στο 40% της συνολικής θνησιμότητας σε γυναίκες, ενώ ο καρκίνος του μαστού μόνο στο 5% (Nappi, Chedraui et al. 2022). Η προοδευτική εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση φαίνεται να σχετίζεται με την χρονο-εξαρτώμενες αλλαγές στα επίπεδα των ορμονών του φύλου, και ειδικότερα την αύξηση του λόγου ανδρογόνα προς οιστρογόνα, με αποτέλεσμα ένα περιβάλλον σχετικής «υπερανδρογοναιμίας» (Armeni and Lambrinoudaki 2022).

### **Τα αμυλοειδή και ο ρόλος τους στην αγγειακό σύστημα**

Η γήρανση είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων και άνοιας. Ωστόσο, οι επικαλυπτόμενοι υποκείμενοι μηχανισμοί δεν εκτιμώνται πλήρως. Το πεπτίδιο του αμυλοειδούς-βήτα (Ab), ένα

πεπτίδιο που προκαλείται από τη γήρανση και το χαρακτηριστικό της υπόθεσης του αμυλοειδούς της νόσου του Alzheimer, αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου (Meakin, Coull et al. 2020).

Αρκετοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου έχουν από καιρό συσχετιστεί με μεγαλύτερο κίνδυνο για μελλοντική γνωστική έκπτωση σε άτομα χωρίς άνοια. Ο έλεγχος των παραγόντων αγγειακού κινδύνου μειώνει αποτελεσματικά τη συχνότητα της άνοιας τόσο σε υγιή όσο και σε άτομα με γνωστικά προβλήματα (Dawkins and Small 2014). Η παρουσία ενδοεγκεφαλικής αθηροσκληρωτικής αγγειακής νόσου επιδεινώνει όλους τους τύπους άνοιας και έχει συσχετιστεί ανεξάρτητα με χειρότερη γνωστική απόδοση ακόμη και σε άτομα χωρίς άνοια. Αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν ότι η φλεγμονώδης φύση τόσο της αθηροσκλήρωσης όσο και της άνοιας που σχετίζεται με τη γήρανση περιλαμβάνει πολλαπλούς κοινούς κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς (Stakos, Stamatelopoulos et al. 2020). Πρόσφατα συσσωρευμένα στοιχεία δείχνουν την ύπαρξη μιας πιθανής μη αποκλειστικής διαδικασίας κοινών βιολογικών συστημάτων που μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες που σχετίζονται με τη γήρανση, την αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο (CVD) και την άνοια (Stamatelopoulos, Sibbing et al. 2015, Stakos, Stamatelopoulos et al. 2020).

Η παραγωγή και η συσσώρευση πεπτιδίων αμυλοειδούς-βήτα (Ab) στον εγκέφαλο θεωρείται το χαρακτηριστικό της υπόθεσης αμυλοειδούς της νόσου του Alzheimer (AD). Τα πεπτίδια Ab είναι πρωτεολυτικά θραύσματα πρόδρομης πρωτεΐνης αμυλοειδούς (APP), μιας ενσωματωμένης πρωτεΐνης της μεμβράνης (Chen, Xu et al. 2017). Το γονίδιο APP παράγει 3 κύριες παραλλαγές ματίσματος, APP695, APP751 και APP770, που παράγονται σε νευρώνες, ενδοθηλιακά κύτταρα και αιμοπετάλια,

αντίστοιχα (Lamb, Call et al. 1997, Stamatelopoulos, Sibbing et al. 2015, Nguyen 2019).

Η ακριβής φυσιολογική λειτουργία αυτής της καλά συντηρημένης, ειδικής για τη θέση οδού APP/Ab δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, αλλά σχετίζεται με τη φυσική αντιμικροβιακή άμυνα και τα πρωτεολυτικά συμβάντα του καταρράκτη της πήξης. Η τελευταία αυτή λειτουργία μεσολαβείται από μια περιοχή αναστολέα πρωτεάσης σερίνης τύπου Kunitz που περιέχεται στα μόρια APP751 και APP770 (Nguyen 2019).

Το APP μπορεί αρχικά να διασπαστεί από α-σεκρετάσες που παράγουν μη αμυλοειδογόνα προϊόντα ανάλογα με τη θέση του στη πλασματική μεμβράνη, τη θέση επεξεργασίας (μεμβράνη ή ενδοσώματα) και το περιβαλλοντικό pH ή από β-σεκρετάσες, επίσης γνωστές ως ένζυμα διάσπασης βήτα αμυλοειδούς (BACE). Η διάσπαση της APP με τη μεσολάβηση της β-σεκρετάσης διατηρεί την ακεραιότητα των θραυσμάτων Ab εντός του εναπομείναντος πεπτιδίου C99, ενώ η επακόλουθη διάσπαση του C99 από τις γ-σεκρετάσες απελευθερώνει πεπτίδια Ab (Lange-Dohna, Zeitschel et al. 2003, Buggia-Prevot, Sevalle et al. 2008).

Η θέση διάσπασης του C99 από τις γ-σεκρετάσες εξαρτάται από τη θέση της επεξεργασίας (ενδοσώματα ή δίκτυο Golgi) και δημιουργεί πεπτίδια αμινοξέων μήκους 40 (Ab1-40 που βρίσκεται κυρίως σε αγγειακές βλάβες) και 42 (Ab1-42, κυρίως σε σχετιζόμενες με AD εγκεφαλικές βλάβες), καθώς και από την ενδοκυτταρική περιοχή του APP. Διάφοροι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της γήρανσης, της φλεγμονής, της νεφρικής δυσλειτουργίας, της ισχαιμίας, των πολυμορφισμών και των φαρμάκων, αυξάνουν τα επίπεδα κυκλοφορίας και την επακόλουθη εναπόθεση του Ab στους ιστούς λόγω της αυξημένης παραγωγής και επεξεργασίας APP ή της μειωμένης κάθαρσης και αποικοδόμησης του Ab. Υπό κανονικές συνθήκες υπάρχει μια ισορροπία

μεταξύ της παραγωγής Ab και της απομάκρυνσης σε διάφορα διαμερίσματα εντός ή εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος (Coma, Guix et al. 2008, Meakin, Coull et al. 2020).

### **Πρωτεΐνη θερμικού σοκ – Heat Shock Protein 60**

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSP) 60 έχουν θεωρηθεί αντιγόνα με ιδιαίτερο ανοσορρυθμιστικό ενδιαφέρον όσον αφορά την καρδιαγγειακή ομοιόσταση (Coelho and Faria 2011, Duan, Tang et al. 2020). Έχει αποδειχθεί ότι τροποποιούν τη λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων, τα μυϊκά καρδιακά κύτταρα και τη δραστηριότητα των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων τόσο στην υγεία όσο και στην ασθένεια (Duan, Tang et al. 2020).

Ένας μεγάλος όγκος δεδομένων υποστηρίζει μια άμεση σύνδεση μεταξύ του HSP60 και της λειτουργίας του καρδιαγγειακού συστήματος. Το ενδοκυτταρικό HSP60 στα μυϊκά καρδιακά κύτταρα έχει προστατευτικό ρόλο στη διατήρηση της μιτοχονδριακής ακεραιότητας και της ικανότητας της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), απαραίτητη για την επιβίωση και τη ρύθμιση της επαναιμάτωσης (Duan, Tang et al. 2020). Σε περίπτωση διακοπής της ακεραιότητας της μιτοχονδριακής αλυσίδας, η έκφραση HSP60 ρυθμίζεται προς τα πάνω για να ελεγχθεί η παραγωγή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και η απελευθέρωση του κυτοχρώματος c (Hollander, Lin et al. 2003). Στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μόρια HSP60 φαίνεται να μετατοπίζονται στη μεμβράνη του πλάσματος και στον εξωκυτταρικό χώρο, υπό συνθήκες στρες (Duan, Tang et al. 2020). Υψηλότερα επίπεδα εξωκυτταρικής HSP60 έχει αποδειχθεί ότι επάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων, υποστηρίζοντας περαιτέρω την αθηροσκληρωτική διαδικασία (Zhao, Zhang et al. 2015, Deniset, Hedley et al. 2018). Προηγούμενα δεδομένα από in vitro μελέτες



έδειξαν ότι η εξωκυτταρική HSP60 μπορεί να προάγει τη σύνθεση πρωτεολυτικών ενζύμων και κυτοκίνες όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF), οι αυξητικοί παράγοντες, η ιντερλευκίνη 10 και τα μόρια προσκόλλησης (Moghimpour Bijani, Vallejo et al. 2012).

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία είναι μία από τις πρώτες αγγειακές αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν σε μεσήλικες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, πριν από τις δομικές αλλαγές του αγγειακού τοιχώματος (Thijssen, Bruno et al. 2019). Έχουμε δείξει προηγουμένως ότι τα κυκλοφορούντα ανδρογόνα είναι προγνωστικοί παράγοντες της επιταχυνόμενης αγγειακής γήρανσης και της αύξησης της αρτηριακής πίεσης μετά την εμμηνόπαυση (Georgiopoulos, Lambrinouadaki et al. 2016). Στόχος μας ήταν να αξιολογήσουμε την πιθανή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του HSP60 και των μορίων αμυλοειδούς στο πλάσμα και της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε ένα δείγμα φαινομενικά υγιών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, λαμβάνοντας υπόψη τις πιθανές ορμονικές αλληλεπιδράσεις.

### **Υπόθεση της παρούσας μελέτης**

Στην παρούσα μελέτη μελετήσαμε τη συσχέτιση ανάμεσα στο καρδιαγγειακό προφίλ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και τα επίπεδα κυκλοφορούντων πεπτιδίων αμυλοειδούς (APP και τις ισομορφές sAPPα και sAPPβ) αλλά και τα επίπεδα της πρωτεΐνης θερμικής καταπληξίας HSP-60. Το καρδιαγγειακό προφίλ των γυναικών εκτιμήθηκε ως ενδοθηλιακή λειτουργία και κλασσικοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### Υλικά και Μέθοδοι

#### Σχεδιασμός μελέτης και πληθυσμός

Αυτή η περιγραφική συγχρονική μελέτη αξιολόγησε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που εξετάστηκαν στην Κλινική Εμμηνόπαυσης του Αρεταίειου Νοσοκομείου, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Το Ιατρείο Εμμηνόπαυσης δραστηριοποιείται από το 1998, προσφέροντας συμβουλές σε όλες τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που αναζητούν βοήθεια για τη διαχείριση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση καθώς και πρακτικές πρωτογενούς πρόληψης. Όλες οι γυναίκες που επισκέφτηκαν την κλινική για πρώτη φορά και είχαν βαθμολογία κλινικής αδυναμίας μικρότερη από 5, κλήθηκαν να συμμετάσχουν στη μελέτη. Η απουσία εμμήνου ρύσεως για περίοδο τουλάχιστον 12 διαδοχικών μηνών μαζί με ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη  $> 25$  mIU/mL και επίπεδα οιστραδιόλης  $< 50$  pg/mL ορίστηκε ως μια γυναίκα μετεμμηνοπαυσιακή.

Όλες οι γυναίκες υποβλήθηκαν, πριν την έναρξη της μελέτης, σε πρόγραμμα αξιολόγησης ρουτίνας που περιελάμβανε μαστογραφία μαστού, γυναικολογική εξέταση και επίχρισμα Παπανικολάου, καθώς και αξιολόγηση νεφρικής/θυρεοειδικής/ηπατικής λειτουργίας όπως επίσης και μέτρηση της οστικής πυκνότητας με DEXA (dual energy X-ray absorpsiometry, απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας ακτίνων X).

Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν: 1) οικογενής υπερχοληστερολαιμία, 2) κλινικά εμφανής ή θεραπευόμενη στεφανιαία νόσος ή καρδιαγγειακή νόσος ή οικογενειακό ιστορικό πρώιμης αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου (άρρενος συγγενή 1ου βαθμού < 55 ετών ή 1ου βαθμού γυναίκα συγγενής < 65 ετών), 3) θρομβοεμβολή καθώς και περιφερική αρτηριακή νόσο, 4) πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια, γυναικολογική κακοήθεια, 5) οξεία ή χρόνια φλεγμονώδης νόσος, 6) χρήση αντιυπερτασικών, υπολιπιδαιμικών φαρμάκων ή άλλων αγγειοδραστικών φαρμάκων, 7) γνωστός σακχαρώδης διαβήτης ή λήψη σχετικών φαρμάκων, 8) λήψη θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης ή εκλεκτικών ρυθμιστών οιστρογόνων, 9) εμμηνοπαυσιακή ηλικία άνω των 10 ετών, 10) κατανάλωση αλκοόλ, περισσότερο από 2-3 ποτήρια κρασί την εβδομάδα), καθώς και 11) γυναίκες με ασυνέπεια με τις οδηγίες της μελέτης. Μετά την εφαρμογή των κριτηρίων αποκλεισμού, επιλέχθηκαν συνολικά 123 υγιείς γυναίκες να συμμετέχουν σε αυτήν τη μελέτη. Όλες οι συμμετέχουσες υπέγραψαν ενημερωμένη συγκατάθεση για συμμετοχή στη μελέτη. Η έγκριση του τμήματος που διενήργησε την μελέτη αυτή ελήφθη από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Αρεταίειου Νοσοκομείου.

### **Πρωτόκολλο της μελέτης**

Στα πλαίσια της πρώτης επίσκεψης στο ιατρείο εμμηνόπαυσης έλαβαν χώρα τα παρακάτω:

- 1) Η επίσκεψη ξεκίνησε με τη λήψη ενός λεπτομερούς ατομικού ιατρικού ιστορικού το οποίο αρχειοθετήθηκε στον ατομικό φάκελο της κάθε ασθενούς. Στη συνέχεια έλαβε χώρα μέτρηση ανθρωπομετρικών παραμέτρων, συμπεριλαμβάνοντας το σωματικό βάρος και το λόγο περιμέτρου μέσης προς περίμετρο ισχίου (waist to hip ratio, WHR). Το βάρος μετρήθηκε με χρήση ψηφιακής ζυγαριάς, και το ύψος με

χρήση αναστημόμετρου και την συμμετέχουσα σε όρθια θέση. Ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) εκτιμήθηκε ως ο λόγος του βάρους σε χιλιόγραμμα, διαιρεμένο δια του ύψους στο τετράγωνο δηλαδή βάρους (kg) / ύψους (m)<sup>2</sup> Το WHR εκτιμήθηκε ως λόγος της περιμέτρου της μέσης, όπως μετρήθηκε στο ακριβές μέσο της απόστασης ανάμεσα στις κατώτερες πλευρές και την οπίσθια άνω λαγόνια άκανθα της πυέλου, κατά τη διάρκεια ελάχιστης εισπνοής. Η περίμετρος του ισχίου μετρήθηκε περίπου 10 εκατοστά κάτω από το κατώτερο όριο της οπίσθιας άνω λαγόνιας άκανθας.

- 2) Ο εργαστηριακός έλεγχος έλαβε χώρα σε δεύτερη φάση. Για το σκοπό αυτό οι γυναίκες έλαβαν τη σύσταση να προσέλθουν στον τμήμα μετά από ολονύκτια νηστεία και αποχή από το κάπνισμα.
  - a) Ο βιοχημικός έλεγχος περιλάμβανε λήψη δείγματος φλεβικού αίματος. Τα δείγματα συλλέχτηκαν, φυγοκεντρήθηκαν και ανάλογα με την περίσταση αποθηκεύτηκαν στους -80 °C μέχρι να λάβει χώρα η αξιολόγηση των μορίων αμυλοειδούς, HSP60 καθώς και για βιοχημικό/ορμονολογικό έλεγχο.
  - b) Υπερηχογραφικός έλεγχος αγγειακής λειτουργίας έλαβε χώρα από τον ίδιο έμπειρο συνεργάτη, ο οποίος δεν έλαβε πληροφορίες για το ιατρικό ιστορικό της εκάστοτε γυναίκας. Η εξέταση είχε ως σκοπό την αξιολόγηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, με μέτρηση της επαγόμενης από ροή αγγειοδιαστολής (flow mediated dilation, FMD).

### **Βιοχημικές και Ορμονικές δοκιμασίες**

Η ολική χοληστερόλη στον ορό μετρήθηκε με ενζυματική δοκιμασία (Abbot, Illinois) με συνολικό συντελεστή διακύμανσης  $\leq 3\%$  και ευαισθησία 5,0 mg/dL. Τα τριγλυκερίδια αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την ενζυματική οξειδάση της

φωσφορικής γλυκερίνης (Abbott) με συνολικό συντελεστή διακύμανσης  $\leq 5\%$  και ευαισθησία 5,0 mg/dL. Η ανάλυση Ultra HDL (Abbott) χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των επιπέδων λιποπρωτεϊνικής χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας (HDL) με συνολικό συντελεστή διακύμανσης  $\leq 4\%$  και ευαισθησία 2,5 mg/dL. Η χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) μετρήθηκε με μεθοδολογία αποβολής (MULTIGENT direct LDL, Abbott, Illinois). Η ευαισθησία της ανάλυσης ήταν  $\leq 10$  mg/dL και ο συνολικός συντελεστής διακύμανσης  $<4\%$ . Η γλυκόζη του ορού μετρήθηκε με τη μεθοδολογία εξοκινάσης/G-6-PDH (Abbott). Ο συνολικός συντελεστής διακύμανσης ήταν  $\leq 5\%$  και η ευαισθησία 2,5 mg/dL. Όλες οι προαναφερθείσες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο σύστημα Architect c 8000 (Abbott Diagnostics, Illinois). Τα επίπεδα HSP60 μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας το Kit Human Heat Shock Protein 60 ELISA (Cusabio Biotech, Newark, DE), με ευαισθησία 0,39 ng/mL. Η επαναληπτικότητα (repeatability ή intra-assay precision) και η αναπαραγωγικότητα (reproducibility ή inter-assay precision) των αναλυτικών δεδομένων της ανάλυσης αναφέρεται ως  $< 8\%$  και  $<10\%$ , αντίστοιχα. Τα επίπεδα πλάσματος των FSH και LH μετρήθηκαν σε ένα Αναλυτή Architect i1000 (Abbott Ireland, Diagnostics Division, Lisnamuck, Longford, Ireland), με ευαισθησία 0,05 mIU/mL και 0,07 mIU/mL, αντίστοιχα. Ο συνολικός συντελεστής διακύμανσης (CV%) κυμαινόταν από 3,2% έως 4,6% για την FSH και από 2,9% σε 4,1% για την LH. Η ολική τεστοστερόνη μετρήθηκε με τον αναλυτή Abbott Architect i1000. Το συνολικό CV% κυμάνθηκε από 3,1% έως 8,0%, και η ευαισθησία ήταν 0,08 ng/mL. Η θειική δευδροεπιανδροστερόνη μετρήθηκε με ανοσοενζυματική ανάλυση (Elecsys 2010 Systems, Roche Diagnostics, Monza, Ιταλία). Το CV% εντός της ανάλυσης ήταν 6%. Οι συγκεντρώσεις της φύλο - ορμονοδεσμευτικής σφαιρίνης SHBG μετρήθηκε με ανοσοδοκιμασία ηλεκτροχημικοφωταύγειας σε αναλυτή Cobas e-411 (Roche

Diagnostics, Mannheim, Γερμανία). Το συνολικό CV% κυμαινόταν από 2,6% έως 5,6%, και η ευαισθησία του ήταν 0,35 nmol/L. Η ινσουλίνη μετρήθηκε σε έναν αναλυτή Abbott Architect i1000. Το συνολικό CV% κυμαινόταν από 1,9% έως 5,2%, και η ευαισθησία ήταν 1 μU/mL. Ο δείκτης ελεύθερων ανδρογόνων (FAI) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ολική τεστοστερόνη και τις τιμές της SHBG με την ακόλουθη εξίσωση  $FAI = \text{τεστοστερόνη (ng/ml)} \cdot 347 / \text{SHBG (ng/L)}$  (Creatsa, Armeni et al. 2012, Stamatelopoulos, Sibbing et al. 2015). Οι συγκεντρώσεις των μορίων αμυλοειδούς και των προδρόμων αμυλοειδούς μετρήθηκαν με την τεχνική ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) για τη μέτρηση ανθρώπινων δειγμάτων από την εταιρεία Immuno-Biologicals Laboratories Co Ltd, ( Biosource/Invitrogen, California, United States). Ο συντελεστής διακύμανσης των μετρήσεων εντός και ανάμεσα στα αντιδραστήρια για τις μετρήσεις ELISA καθώς και το επίπεδο ευαισθησίας ήταν ως εξής sAPPβ-w, <5% και <5%, 0.05ng/mL; sAPPα <7.4% και <12.7%, 0.09ng/mL; total sAPP <5% και <13%, 0.06ng/mL. Τα επίπεδα κρεατινίνης ορού μετρήθηκαν με τη χρήση εμπορικώς διαθέσιμου αντιδραστηρίου. Ο αλγόριθμος Cockcroft-Gault χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας (eGFR) ως εξής:  $eGFR = \{((140 - \text{ηλικία}) \times \text{βάρους}) / (72 \times \text{κρεατινίνη ορού})\} \times 0.85$ . Η αξιολόγηση του μοντέλου ομοιόστασης της αντίστασης στην ινσουλίνη (HOMA- IR) υπολογίστηκε ως εξής:  $\text{ινσουλίνη νηστείας (}\mu\text{U/mL)} \times \text{γλυκόζη νηστείας (mmol/L)} / 22, 5$ .

### **Διαστολή με μεσολάβηση ροής (flow mediated dilation, FMD)**

Η ενδοθηλιακή λειτουργία εκτιμήθηκε μέσω της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιονίου αρτηρίας μετά από αντιδραστική υπεραϊμία (flow-

mediated dilatation, FMD). Η FMD αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας υπερήχους υψηλής ανάλυσης (Vivid 7 Pro, GE) με προσαρτημένο ανιχνευτή γραμμικής διάταξης πολλαπλών συχνοτήτων 7,0 έως 14,0 Hz. Το CV του ενδοπαρατηρητή υπολογίστηκε σε 8,2%. Η δεξιά βραχιόνιος αρτηρία απεικονίστηκε διαμήκης πάνω από τον προθυλακικό βόθρο σε ύπτια θέση του αντιβραχίου. Ο εξεταστής τοποθέτησε μια πνευματική περιχειρίδα γύρω από το αντιβράχιο και η αρχική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με εκτίμηση της διαμέτρου του βραχιονίου και της ταχύτητας ροής.

Η περιχειρίδα φουσκώθηκε γρήγορα στα 250 mm Hg για 5 λεπτά, και στη συνέχεια ξεφουσκώθηκε, προκαλώντας αύξηση της αρτηριακής ροής (αντιδραστική υπεραιμία).

Στη συνέχεια, παρακολούθησαμε την έκταση της αντιδραστικής υπεραιμίας, την ταχύτητα και τις αλλαγές στη διάμετρο για 90 δευτερόλεπτα. Η FMD υπολογίστηκε ως το ποσοστό της μέγιστης μεταβολής της διαμέτρου του αυλού μεταξύ ηρεμίας και αντιδραστικής υπεραιμίας. Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ των κατηγοριών για την FMD που μετρήθηκε δύο διαδοχικά πρωινά από τον ίδιο ερευνητή ήταν 0,706.

### **Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με SPSS έκδοση 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Τα ποιοτικά δεδομένα εκφράζονται ως απόλυτες μετρήσεις και συχνότητες. Τα ποσοτικά δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές και τυπική απόκλιση (μέσος όρος  $\pm$  SD) ή διάμεσος (εύρος μεταξύ τεταρτημορίων). Η κανονικότητα των κατανομών απεικονίστηκε γραφικά μέσω ιστογραμμάτων και γραφημάτων Quantile-Quantile. Ο λογαριθμικός μετασχηματισμός χρησιμοποιήθηκε για μη κανονικά κατανομημένες μεταβλητές, δηλαδή τιμές HSP60. Οι τιμές του HSP60 συγκρίθηκαν με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και/ή ανάλυση συνδιακύμανσης (ANCOVA), χρησιμοποιώντας τη διάμεση τιμή του FMD ως οριο. Πραγματοποιήσαμε ανάλυση

συσχέτισης από τον Pearson για να αξιολογήσουμε τους δεσμούς μεταξύ δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας και κεντρικής αρτηριακής πίεσης και οποιουδήποτε από τα αξιολογηθέντα μόρια, καθώς και πιθανούς ορμονικούς και μεταβολικούς καθοριστικούς παράγοντες. Επιπλέον, αξιολογήσαμε πιθανές συσχετίσεις μεταξύ των τιμών της HSP60 και των επιπέδων ορού των ανδρογόνων ορμονών του φύλου. Τέλος, χρησιμοποιήσαμε μοντέλα πολυπαραγοντικής παλινδρόμησης τα οποία περιλάμβαναν τις τιμές FMD ως εξαρτώμενη μεταβλητή και ως ανεξάρτητες μεταβλητές τα επίπεδα των μορίων που αξιολογήθηκαν αλλά και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο επίπεδο του  $p\text{-value}<0.05$ .



## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Α. Περιγραφική ανάλυση

Ο πίνακας 1 περιγράφει τα βασικά χαρακτηριστικά των γυναικών της μελέτης μας, δίνοντας έμφαση σε ανθρωπομετρικούς δείκτες, δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου και τιμές FMD.

**Πίνακας 1.** Ανθρωπομετρικοί / δημογραφικοί παράγοντες καθώς και βιοχημικός / ορμονολογικός έλεγχος για τις n=123 εμμηνοπαυσιακές γυναίκες της μελέτης

	Mean $\pm$ SD or Frequency (%)	IQR
<b><i>Anthropometric / demographic parameters</i></b>		
Age (years)	55.5 $\pm$ 5.8	52.0– 58.0
YSM (years)	7.58 $\pm$ 5.9	3.0 – 10.0
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.9 $\pm$ 4.3	23.0– 28.4
Overweight – obesity (%)	49.7% (79/159)	
SBP (mmHg)	119.3 $\pm$ 17.4	106.0– 130.0
DBP (mmHg)	74.2 $\pm$ 9.1	67.8– 81.0
Current smoking (%)	29.6% (47/159)	
<b><i>Biochemical parameters</i></b>		
Cholesterol (mg/dL)	230.4 $\pm$ 39.1	209.0– 256.0
HDL-C (mg/dL)	62.0 $\pm$ 17.3	50.0– 72.8
Triglycerides (mg/dL)	90.9 $\pm$ 39.9	66.0 – 102.0
LDL-C (mg/dL)	142.4 $\pm$ 36.7	114.5– 168.0
Glucose (mg/dL)	92.1 $\pm$ 8.9	86.0– 97.0
Insulin ( $\mu$ IU/mL)	7.1 $\pm$ 4.5	4.3– 8.5
HOMA-IR	1.7 $\pm$ 1.2	0.9– 1.9
C-reactive protein (mg/dL)	0.4 $\pm$ 0.7	0.1 – 0.3
s-APP $\beta$ -w (pg/mL)	27.2 $\pm$ 13.6	14.7– 39.4
s-APPT (pg/mL)	26.9 $\pm$ 13.4	15.3– 38.0
s-APP $\alpha$ (pg/mL)	25.1 $\pm$ 13.2	14.4– 35.9
<b><i>Hormonal parameters</i></b>		
FSH (mIU/mL)	76.4 $\pm$ 30.6	53.6– 98.6

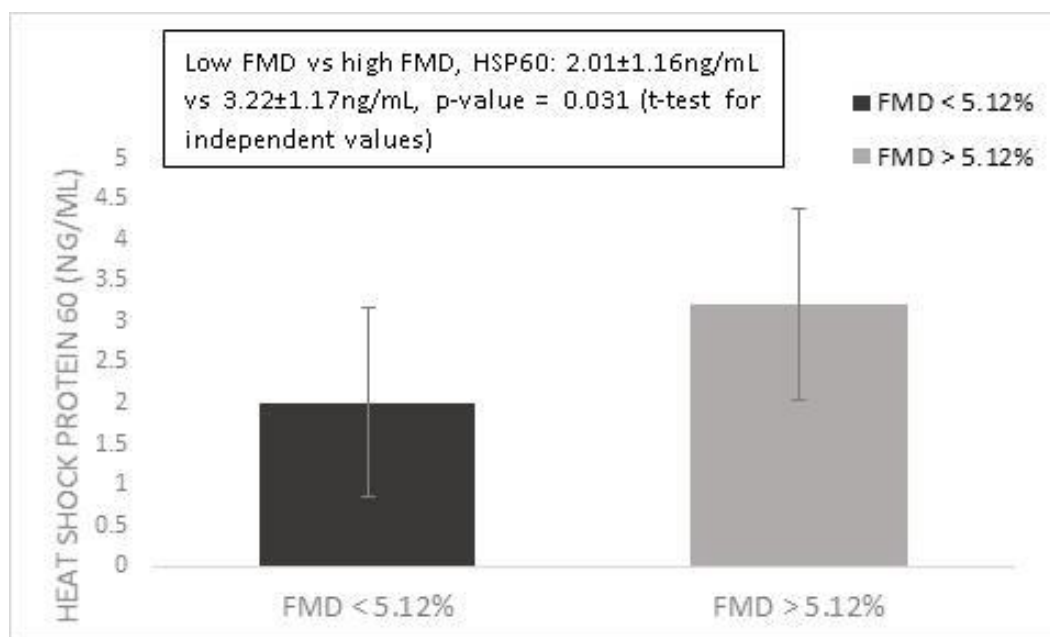
LH (mIU/mL)	37.7 ± 19.3	25.3 – 46.2
Testosterone (ng/dL)	0.4 ± 0.3	0.3 – 0.5
SHBG (nmol/L)	66.3 ± 28.4	45.1 – 86.3
FAI	2.5 ± 1.8	1.3 – 3.2
DHEAS (ng/dL)	345.2 ± 80.8	85.0 – 640.0
<b><i>Endothelial function</i></b>		
Flow mediated dilation (%)	5.4 ± 2.7	3.3 – 6.8
YSM=years since menopause; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; HDL=high density lipoprotein; LDL=low density lipoprotein; HOMA-IR=homeostasis model assessment of insulin resistance; FSH=follicular stimulating hormone; LH=luteinizing hormone; SHBG=sex hormone binding globulin; FAI=free androgen index; SD=standard deviation; IQR=interquartile range		

## **B. Έλεγχος συσχετίσεων**

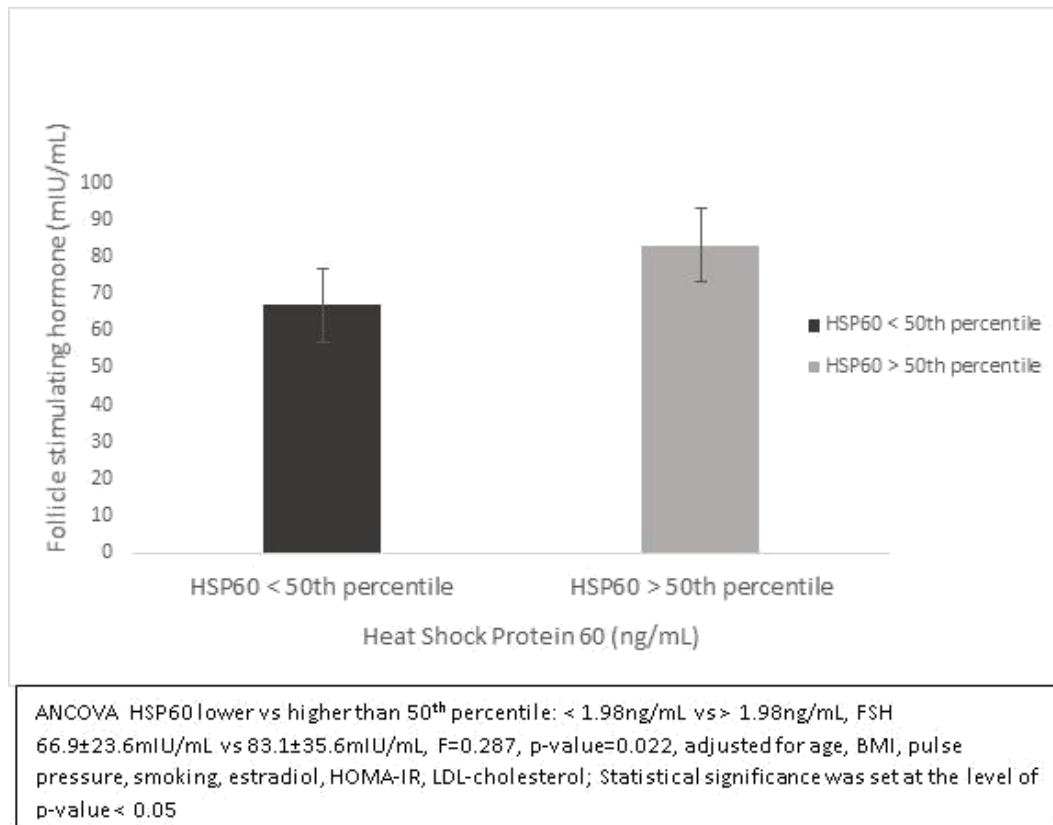
### ***B.1. Συσχέτιση HSP-60 με τιμές FMD και δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου***

Συνεχίσαμε την ανάλυση συγκρίνοντας τις τιμές HSP60 και τις τιμές των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου, χρησιμοποιώντας ως όριο αποκοπής τη διάμεσο τιμή του FMD. Τα επίπεδα της πρωτεΐνης θερμικού σοκ 60 (HSP60) διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα σε γυναίκες με υψηλά και χαμηλά επίπεδα FMD (FMD values < 5.12% vs ≥5.12%, log-transformed comparison of HSP60 values: 2.01±1.16ng/mL vs 3.22±1.17ng/mL, p-value=0.031, Εικόνα 1). Ελέγχοντας για πιθανή γραμμική συσχέτιση μεταξύ FMD και HSP60 φάνηκε μόνο μια τάση θετικής συσχέτισης (r-coefficient = 0.168, p-value = 0.069).

**Εικόνα 1:** Σχέση ανάμεσα τις μετρήσεις της πρωτεΐνης θερμικού σοκ (HSP60) και τις μετρήσεις FMD, χρησιμοποιώντας ως όριο αποκοπής τη διάμεση τιμή του FMD 5.12%.



Μετά την διαβάθμιση των επιπέδων HSP60 παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα επίπεδα της FSH. Συγκεκριμένα φάνηκε υψηλότερη FSH σε γυναίκες με υψηλότερα επίπεδα HSP60 (<1.98ng/mL vs >1.98ng/mL, FSH: 66.9±23.6mIU/mL vs 83.1±35.6mIU/mL, F=0.287, p-value=0.022, ANCOVA, προσαρμογή ανάλογα με ηλικία, BMI, πίεση, κάπνισμα, οιστραδιόλη, HOMA-IR, LDL-cholesterol, Figure 2). Καμία άλλη στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε σε σχέση με τα επίπεδα HSP60 και τεστοστερόνης, ινσουλίνης, HOMA-IR or DHEAS.



**Εικόνα 2.** Τιμές της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης ανάλογα με τις τιμές της πρωτεΐνης HSP60, διαβαθμισμένες ανάλογα με τη διάμεσο τιμή 1.98ng/mL

### ***B.2. Συσχέτιση μορίων αμυλοειδούς με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου***

Στη συνέχεια αξιολογήσαμε πιθανές συσχετίσεις ανάμεσα στα μόρια πρόδρομου αμυλοειδούς και κλασσικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Οι τιμές του s-APPβ-w συσχετίστηκαν με τιμές CRP (r-coefficient = 0.010), και κρεατινίνης (r-coefficient = 0.007). Οι τιμές s-APPT συσχετίστηκαν με την ηλικία (r-coefficient = 0.0010), ολική χοληστερόλη (r-coefficient = 0.017). Δεν παρατηρήσαμε σημαντικές συσχετίσεις για τις τιμές s-APPα και κανένα από τους υπό αξιολόγηση παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Δεν ανευρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις τιμές των μορίων HSP60 και τα μόρια αμυλοειδούς (s-APPα, r-coefficient = 0.199,

p-value = 0.545; s-APP $\beta$ -w, r-coefficient = 0.084, p-value = 0.669; s-APPT, r-coefficient = 0.005, p-value = 0.981).

**Πίνακας 2.** Συσχετίσεις ανάμεσα στις τιμές των μορίων αμυλοειδούς και κλασσικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου καθώς και τις τιμές μορίων HSP60 (p values).

	s-APP $\beta$ -w	s-APPT	s-APPa
Age (year)	0.907	<b>0.001</b>	0.563
Years of Menopause (years)	0.756	0.674	0.555
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.488	0.912	0.403
Waist (cm)	0.060	0.994	0.784
Systolic Blood Pressure (mmHg)	0.441	0.631	0.472
Diastolic Blood Pressure (mmHg)	0.090	0.704	0.977
CRP (mg/dL)	<b>0.010</b>	0.136	0.340
eGFR	0.989	0.399	0.406
Glucose (mg/dL)	0.678	0.760	0.089
HbA1c (%)	0.563	0.762	0.088
Insulin (mIU/L)	0.288	0.839	0.728
Cholesterol (mg/dL)	0.377	<b>0.017</b>	0.625
Triglycerides (mg/dL)	0.545	0.263	0.284
HDL-cholesterol (mg/dL)	0.392	0.296	0.696
LDL-cholesterol (mg/dL)	0.935	0.238	0.068
SHGB (nmol/L)	0.314	0.310	0.062
Testosterone (ng/dL)	0.868	0.244	0.408
Creatinine (mg/dL)	<b>0.007</b>	0.136	0.414
Urea (mg/dL)	0.640	0.649	0.808
Estradiol (pg/mL)	0.957	0.682	0.454
FSH (mIU/mL)	0.283	0.343	0.299
LH (mIU/mL)	0.194	0.092	0.178
Log[HSP60 (ng/mL)]	0.084	0.005	0.199

### B.3. Συσχέτιση FMD με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου

Ο δείκτης FMD συσχετίστηκε αρνητικά με τα επίπεδα ινσουλίνης ( $r$ -coefficient = - 0.181,  $p$ -value = 0.046), DHEAS ( $r$ = - 0.275,  $p$ -value=0.013), τεστοστερόνης ( $r$ -coefficient = - 0.192,  $p$ -value = 0.028) και FAI ( $r$ -coefficient = -0.183,  $p$ -value = 0.046), ενώ υπήρχε μια αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα HOMA-IR ( $r$  = -0.156,  $p$ -value = 0.087). Από την άλλη φάνηκε μια θετική τάση με την FSH ( $r$ = 0.197,  $p$ -value = 0.084).

**Πίνακας 3.** Έλεγχος συσχετίσεων ανάμεσα στις τιμές της επαγόμενης από ροής αγγειοδιαστολής και ορμονολογικούς – μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου καθώς και τιμές HSP60

	Flow mediated dilation	
	All women N=123	
	<i>r</i> -coefficient	<i>p</i> -value
Age (years)	-0.098	0.221
YSM (years)	0.011	0.913
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0.004	0.959
SBP (mmHg)	-0.075	0.350
DBP (mmHg)	-0.100	0.215
Cholesterol (mg/dL)	-0.049	0.558
HDL-C (mg/dL)	0.021	0.800
Triglycerides (mg/dL)	-0.054	0.515
LDL-C (mg/dL)	-0.021	0.803
Glucose (mg/dL)	0.041	0.625
Insulin (μIU/mL)	<b>-0.181</b>	<b>0.046</b>
HOMA-IR	-0.156	0.087
FSH (mIU/mL)	0.197	0.084
LH (mIU/mL)	0.056	0.501
DHEAS	<b>-0.275</b>	<b>0.013</b>
Testosterone (ng/dL)	<b>-0.192</b>	<b>0.028</b>

SHBG (nmol/L)	0.083	0.357
FAI	<b>-0.183</b>	<b>0.046</b>
Log[HSP60 (ng/mL)]	0.168	0.069

YSM = years since menopause; BMI=body mass index; SBP=systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; HDL-C=high density lipoprotein cholesterol; LDL-cholesterol=low density lipoprotein cholesterol; HOMA-IR=homeostasis model assessment of insulin resistance; FSH=follicular stimulating hormone; LH=luteinizing hormone; SHBG=sex hormone binding globulin; FAI=free androgen index; log transformed values of heat shock protein 60

Bold indicates statistical significance at the level of p-value < 0.05

### ***Γ. Πολυπαραγοντική ανάλυση***

Τα μοντέλα πολυπαραγοντικής παλινδρόμησης περιλάμβαναν τιμές FMD ως εξαρτημένη μεταβλητή και τιμές της logHSP60 καθώς και κλασσικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου ως ανεξάρτητες μεταβλητές (δηλαδή ηλικία, συστολική αρτηριακή πίεση, ανδρογόνα).

Το **μοντέλο 1** δείχνει ότι οι τιμές FMD συσχετίστηκαν σημαντικά με logHSP60 (b-coefficient=0.205, 95% CI: 0.143 to 0.323, p-value=0.034) σε ένα μοντέλο που περιλάμβανε επίσης την ηλικία, συστολική αρτηριακή πίεση, κάπνισμα, LDL-χοληστερόλη και δείκτη μάζας σώματος.

Το **μοντέλο 2** κατέδειξε ότι η σημαντική σχέση ανάμεσα σε FMD και log-HSP60 χάθηκε ύστερα από την προσθήκη της τεστοστερόνης και HOMA-IR.

Στο **μοντέλο 3** παρατηρούμε ότι ύστερα από την προσθήκη τους DHEAS αντί της τεστοστερόνης στο εν λόγω μοντέλο, η σχέση μεταξύ , FMD και logHSP60 γίνεται μη σημαντική. Ωστόσο, στο μοντέλο αυτό βλέπουμε μια σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα σε τιμές  $\nu$  DHEAS και FMD (beta-coefficient, -0.199, 95% CI: -0.268 to -

0.049, p-value=0.039). Παράλληλα, η προσθήκη FSH στα παραπάνω μοντέλα δεν άλλαξε σημαντικά τα αποτελέσματα. Επίσης, τα αποτελέσματα παρέμειναν αμετάβλητα ύστερα από τον περιορισμό της αξιολόγησης στις γυναίκες με τιμές FMD στα φυσιολογικά όρια του εργαστηρίου.

**Πίνακας 4.** Linear regression analysis including models of multivariable analysis fitted with the most significant predictors of flow mediated dilation.

	Model R2	b-coefficient	95% CI	p-value
<b>Model 1</b>				
Age (years)	5.4%	-0.073	-0.238 to -0.064	0.449
Pulse pressure (mmHg)		-0.011	-0.321 to 0.038	0.924
Smoking		0.081	0.056 to 0.278	0.401
LDL-cholesterol (mg/dL)		-0.001	-0.412 to 0.089	0.993
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		-0.026	-0.378 to 0.032	0.789
logHSP60		<b>0.244</b>	<b>0.143 to 0.323</b>	<b>0.031</b>
<b>Model 2</b>	8.0%			
Age (years)		-0.062	-0.331 to 0.128	0.438
Pulse pressure (mmHg)		-0.010	-0.138 to 0.013	0.921
Smoking		-0.029	-0.327 to 0.189	0.715
LDL-cholesterol (mg/dL)		-0.040	-0.489 to 0.078	0.611
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		0.005	0.001 to 0.789	0.953
logHSP60		0.580	0.038 to 0.948	0.111
Testosterone (ng/dL)		-0.224	-0.311 to -0.047	0.083
<b>Model 3</b>	15%			
Age (years)		-0.108	-0.347 to 0.042	0.266
Pulse pressure (mmHg)		-0.007	-0.049 to 0.055	0.942
Smoking		-0.055	-0.232 to 0.110	0.566
LDL-cholesterol (mg/dL)		-0.133	-0.214 to 0.053	0.167
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		0.015	0.001 to 0.649	0.877
logHSP60		0.156	0.029 to 0.532	0.101
DHEAS (ng/dL)		<b>-0.199</b>	<b>-0.268 to -0.049</b>	<b>0.039</b>



SBP = systolic blood pressure; LDL-cholesterol = low density lipoprotein cholesterol; BMI = body mass index ; HSP60 = heat shock protein 60 Model 2 = Model 1 + testosterone

\*Adjustment for values of follicle stimulating hormone did not substantially change the results of the above models.

**Bold indicates statistical significance was defined as p-value < 0.05**

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης υποστηρίζουν μια σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των τιμών FMD και HSP60, μετά από προσαρμογή για παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Αυτή η συσχέτιση έγινε μη σημαντική μετά από περαιτέρω προσαρμογή για το HOMA-IR και τα επίπεδα των ανδρογόνων. Επιπλέον, τα επίπεδα της FSH φαίνεται να συνδέονται άμεσα με τα επίπεδα της HSP60, μετά την εμμηνόπαυση, ανεξάρτητα από παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Δεν βρήκαμε σημαντική σχέση ανάμεσα στα επίπεδα των μορίων αμυλοειδούς και τα μόρια HSP60

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSP) έχουν κυρίαρχο ρόλο στην τροποποίηση της κυτταρικής απόκρισης σε γεγονότα που σχετίζονται με το στρες (van Hinsbergh and Koolwijk 2008). Τα μόρια HSP60 είναι εμφανή ενδοκυτταρικά (π.χ. χώρος μήτρας μιτοχονδρίων και κυτταρόπλασμα) καθώς και στην πλασματική μεμβράνη και στον εξωκυτταρικό χώρο και στην κυκλοφορία του αίματος (Duan, Tang et al. 2020). Συνεπώς, ο λειτουργικός ρόλος των μορίων HSP60 σχετίζεται με τον εντοπισμό τους και ποικίλλει από τη συνοδεία της μιτοχονδριακής δραστηριότητας έως την τροποποίηση των κυτταρικών διεργασιών όπως οι ανοσολογικές αποκρίσεις, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η κυτταρική απόπτωση (Henderson, Fares et al. 2013).

Πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν έναν πολύπλοκο ρόλο της HSP60, η οποία ανήκει στις chaperonins της Ομάδας I και τυπικά λειτουργεί μέσα στα μιτοχόνδρια (Krishnan-Sivadoss, Mijares-Rojas et al. 2021). Ο ρόλος αυτών των μορίων κυμαίνεται από προφλεγμονώδη βιοδείκτη αγγειακής βλάβης έως αντιφλεγμονώδη ανοσοτροποποιητή. Ο ρόλος του HSP60 στην επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vivo*, ειδικά στο πλαίσιο του ορμονικού περιβάλλοντος μετά την εμμηνοπαυσιακή

μετάβαση έχει λάβει περιορισμένη προσοχή (Krishnan-Sivadoss, Mijares-Rojas et al. 2021). Η έκφραση και ο εντοπισμός της HSP60 στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα ρυθμίζεται από διάφορες προσβολές όπως φλεγμονή, χημικό στρες και λοιμώδεις παράγοντες. Τα αποτελέσματα είναι κυρίως διαθέσιμα από *in vitro* και όχι *in vivo* μελέτες, οι οποίες υπογραμμίζουν ότι οι παράγοντες κινδύνου για αθηρογένεση μπορεί να ρυθμίσουν προς τα πάνω την ενδοκυτταρική έκφραση του HSP60 και να προκαλέσουν μετατόπιση αυτής της πρωτεΐνης από τα μιτοχόνδρια στην κυτταρική επιφάνεια (Caruso Bavisotto, Alberti et al. 2020). Το επίπεδο της ενδοκυτταρικής και ιδιαίτερα της εξωκυτταρικής HSP60 φαίνεται να μεσολαβεί στον πρόσθετο αθηρογόνο κίνδυνο. Τα μόρια HSP60 συνδέονται με τη μεμβράνη ATP-συνθάση, διαδραματίζοντας προστατευτικό ρόλο έναντι της κυτταρικής απόπτωσης (Duan, Tang et al. 2020). Η υπερέκφραση της ενδο- και εξωκυτταρικής HSP60 έχει αναφερθεί ότι προάγει την παραγωγή πρωτεολυτικών κυτοκινών και ενζύμων, όπως ο TNF και τα μόρια προσκόλλησης, τα οποία πιθανώς επάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων που οδηγούν σε αθηρογένεση (Caruso Bavisotto, Alberti et al. 2020, Duan, Tang et al. 2020).

Στο δείγμα μας, τα επίπεδα των ανδρογονικών ορμονών του φύλου στον ορό δεν συσχετίστηκαν σημαντικά με την HSP60, αλλά οι γυναίκες με υψηλότερες τιμές FSH είχαν υψηλότερα επίπεδα HSP60, ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Αυτή η ενδιαφέρουσα συσχέτιση υπονοεί ότι η αύξηση της FSH είναι εμφανής γύρω στο χρόνο της μετάβασης στην εμμηνόπαυση και ακόμη και πριν από τη γήρανση των ωοθηκών (Harlow, Gass et al. 2012) συνδέεται με αλλαγές στην ομοιόσταση της HSP. Αυτό το εύρημα είναι σύμφωνο με προηγούμενα *in vitro* στοιχεία που περιγράφουν τη μέγιστη παραγωγή HSP60 μετά την ωορρηξία, άρα αμέσως μετά την κορύφωση εάν οι τιμές FSH παρατηρήθηκαν εντός του

εμμηνορροϊκού κύκλου (Neuer, Spandorfer et al. 2000). Σύμφωνα με αυτήν την παρατήρηση, μια μικρή παρεμβατική μελέτη 90 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών ανέφερε σημαντική μείωση των τίτλων των αντισωμάτων κατά του HSP60 σε γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία με ορμονική υποκατάσταση σε αντίθεση με τον έλεγχο (Rajtar-Ciosek, Kacalska-Janssen et al. 2015), υποδηλώνοντας ορμονική ρύθμιση των επιπέδων της HSP.

Παρατηρήσαμε μια θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του FMD και των επιπέδων του αντιγόνου HSP60 στον ορό, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με FMD εντός του εύρους αναφοράς. Ωστόσο, αυτή η αλληλεπίδραση έγινε μη σημαντική μετά από περαιτέρω προσαρμογή για την αντίσταση στην ινσουλίνη και τα επίπεδα ανδρογόνων. Προηγούμενη έρευνα έχει δείξει ότι τα HSP60s εμπλέκονται στη διαδικασία της μιτοχονδριακής στεροειδογένεσης, ρυθμίζοντας τη μεταφορά χοληστερόλης στα κύτταρα του ανθρώπινου πλακούντα (Miller 2013). Σε αυτό το πλαίσιο, η υπόθεση της πιθανής μεσολαβητικής επίδρασης των ανδρογόνων ορού στην αλληλεπίδραση μεταξύ HSP60 και FMD δεν φαίνεται παράλογη. Μια προηγούμενη μελέτη (Wick 2016) περιγράφει την υπόθεση μιας αθηροπροστατευτικής ανοσολογικής ανοχής, η οποία μπορεί να προκληθεί μέσω της ενεργοποίησης κυτταρικών και χυμικών ανοσολογικών αντιδράσεων στα αυτοαντιγόνα HSP60. Σύμφωνα με τα ευρήματά μας, η αντίσταση στην ινσουλίνη που ορίζεται ως HOMA-IR καθώς και τα επίπεδα ανδρογόνων μεσολάβησαν στη συσχέτιση μεταξύ HSP60 και FMD, στην πολυμεταβλητή ανάλυση. Το μετεμμηνοπαυσιακό προφίλ της «σχετικής ανδρογονικότητας» μετά τη γήρανση των ωοθηκών είναι πιθανό να ενεργεί ως το έναυσμα για την προώθηση της αθηροπροστατευτικής ανοσολογικής ανοχής στα μόρια HSP60 (Davis, Lambrinouadaki et al. 2015). Τα δεδομένα σχετικά με τη σχέση μεταξύ της παραγωγής HSP60 στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και των ανδρογόνων παραμένουν αντικρουόμενα. Τα

επίπεδα του αυτοαντιγόνου HSP60 φαίνεται να διαμορφώνονται σύμφωνα με τα επίπεδα των κυκλοφορούντων ανδρογόνων στον ορό, όπως αναφέρθηκε σε μια μελέτη ανθρώπινων προστατικών κυττάρων, όπου τα επίπεδα αυτοαντιγόνου έχουν αναφερθεί ότι αυξάνονται κατά 1,7 φορές σε κύτταρα με ανδρογονική έλλειψη όχι σε κύτταρα ευαίσθητα στα ανδρογόνα (Wright, Eng et al. 2003). Από την άλλη πλευρά, in vitro δεδομένα σε κύτταρα Sertoli, που ανακτήθηκαν από ποντίκια, κατέδειξαν ενδείξεις μείωσης της τεστοστερόνης της HSP60, που προκαλείται από την αναστολή της μεταγραφής του παράγοντα θερμικού σοκ (Yang, Wang et al. 2014).

Αυτή η μελέτη έχει ορισμένους περιορισμούς που πρέπει να περιγραφούν. Πρώτον, το μέγεθος του δείγματος είναι μικρό. Δεύτερον, η διατομεακή φύση των παρατηρούμενων συσχετισμών δεν μπορεί να επιτρέψει την ανίχνευση της αιτιότητας. Τρίτον, δεν έχουμε μετρήσει τα επίπεδα αντισωμάτων HSP60, κάτι που θα παρείχε περισσότερες πληροφορίες για την πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ αυτού του μορίου σαπερονίνης και της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Από την άλλη πλευρά, η ομάδα μελέτης μας αποτελείται από προσεκτικά επιλεγμένες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, χωρίς εμφανή προβλήματα υγείας, επιτρέποντας τη χρήση για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου μεροληψίας στις παρατηρούμενες έρευνες.

Συμπερασματικά, παρατηρήσαμε ότι η ενδοθηλιακή λειτουργία σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζεται θετικά με τα επίπεδα HSP60, υποδεικνύοντας πιθανή συσχέτιση, ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Η προσθήκη άλλων ορμονικών παραγόντων όπως η τεστοστερόνη ή η DHEAS στην εξίσωση έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια αυτής της ισορροπίας, με αποτέλεσμα την αγγειακή βλάβη. Απαιτούνται περαιτέρω προοπτικές μελέτες για να επιβεβαιωθεί η σημασία των ευρημάτων μας. Εάν αυτά τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης αποδεικνύονταν ότι είναι αιτιολογικά, αυτό θα

αποκάλυπτε πιθανώς έναν νέο παθοφυσιολογικό μηχανισμό που εξηγεί την επίδραση των ανδρογόνων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε αυτή την ομάδα γυναικών με μη αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

(2015). "Nonhormonal management of menopause-associated vasomotor symptoms: 2015 position statement of The North American Menopause Society." *Menopause* 22(11): 1155-1172; quiz 1173-1154.

(2020). "The 2020 genitourinary syndrome of menopause position statement of The North American Menopause Society." *Menopause* 27(9): 976-992.

(2022). "The 2022 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society." *Menopause* 29(7): 767-794.

Abe, H., H. Semba and N. Takeda (2017). "The Roles of Hypoxia Signaling in the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases." *J Atheroscler Thromb* 24(9): 884-894.

Abubaker, A. A., D. Vara, C. Visconte, I. Eggleston, M. Torti, I. Canobbio and G. Pula (2019). "Amyloid Peptide  $\beta$ 1-42 Induces Integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 Activation, Platelet Adhesion, and Thrombus Formation in a NADPH Oxidase-Dependent Manner." *Oxid Med Cell Longev* 2019: 1050476.

Akishita, M., M. Hashimoto, Y. Ohike, S. Ogawa, K. Iijima, M. Eto and Y. Ouchi (2008). "Association of plasma dehydroepiandrosterone-sulfate levels with endothelial function in postmenopausal women with coronary risk factors." *Hypertens Res* 31(1): 69-74.

Alasmari, F., M. A. Alshammari, A. F. Alasmari, W. A. Alanazi and K. Alhazzani (2018). "Neuroinflammatory Cytokines Induce Amyloid Beta Neurotoxicity through Modulating Amyloid Precursor Protein Levels/Metabolism." *Biomed Res Int* 2018: 3087475.

Anagnostis, P., J. Bitzer, A. Cano, I. Ceausu, P. Chedraui, F. Durmusoglu, R. Erkkola, D. G. Goulis, A. L. Hirschberg, L. Kiesel, P. Lopes, A. Pines, M. van Trotsenburg, I.

Lambrinouadaki and M. Rees (2020). "Menopause symptom management in women with dyslipidemias: An EMAS clinical guide." *Maturitas* 135: 82-88.

Ansari, M. Y. and S. C. Mande (2018). "A Glimpse Into the Structure and Function of Atypical Type I Chaperonins." *Front Mol Biosci* 5: 31.

Armeni, E. and I. Lambrinouadaki (2022). "Menopause, androgens, and cardiovascular ageing: a narrative review." *Ther Adv Endocrinol Metab* 13: 20420188221129946.

Armeni, E., I. Lambrinouadaki, I. Ceausu, H. Depypere, A. Mueck, F. R. Perez-Lopez, Y. T. Schouw, L. M. Senturk, T. Simoncini, J. C. Stevenson, P. Stute and M. Rees (2016). "Maintaining postreproductive health: A care pathway from the European Menopause and Andropause Society (EMAS)." *Maturitas* 89: 63-72.

Attems, J. and K. A. Jellinger (2014). "The overlap between vascular disease and Alzheimer's disease--lessons from pathology." *BMC Med* 12: 206.

Austin, S. A., L. V. d'Uscio and Z. S. Katusic (2013). "Supplementation of nitric oxide attenuates A $\beta$ PP and BACE1 protein in cerebral microcirculation of eNOS-deficient mice." *J Alzheimers Dis* 33(1): 29-33.

Azevedo, E. P., A. B. Guimarães-Costa, G. S. Torezani, C. A. Braga, F. L. Palhano, J. W. Kelly, E. M. Saraiva and D. Foguel (2012). "Amyloid fibrils trigger the release of neutrophil extracellular traps (NETs), causing fibril fragmentation by NET-associated elastase." *J Biol Chem* 287(44): 37206-37218.

Baber, R. J., N. Panay and A. Fenton (2016). "2016 IMS Recommendations on women's midlife health and menopause hormone therapy." *Climacteric* 19(2): 109-150.

Bachmeier, C., B. Shackleton, J. Ojo, D. Paris, M. Mullan and F. Crawford (2014). "Apolipoprotein E isoform-specific effects on lipoprotein receptor processing." *Neuromolecular Med* 16(4): 686-696.

Bondarev, D., T. Finni, K. Kokko, U. M. Kujala, P. Aukee, V. Kovanen, E. K. Laakkonen and S. Sipilä (2021). "Physical Performance During the Menopausal Transition and the Role of Physical Activity." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 76(9): 1587-1590.

Bonnet, S., R. Paulin, G. Sutendra, P. Dromparis, M. Roy, K. O. Watson, J. Nagendran, A. Haromy, J. R. Dyck and E. D. Michelakis (2009). "Dehydroepiandrosterone reverses systemic vascular remodeling through the inhibition of the Akt/GSK3- $\beta$ /NFAT axis." *Circulation* 120(13): 1231-1240.

Bozner, P. (1997). "Immunological detection and subcellular localization of Hsp70 and Hsp60 homologs in *Trichomonas vaginalis*." *J Parasitol* 83(2): 224-229.

Braunstein, G. D., B. D. Johnson, F. Z. Stanczyk, V. Bittner, S. L. Berga, L. Shaw, T. K. Hodgson, M. Paul-Labrador, R. Azziz and C. N. Merz (2008). "Relations between endogenous androgens and estrogens in postmenopausal women with suspected ischemic heart disease." *J Clin Endocrinol Metab* 93(11): 4268-4275.

Brincat, M., J. Calleja-Agius, C. T. Erel, M. Gambacciani, I. Lambrinoudaki, M. H. Moen, K. Schenck-Gustafsson, F. Tremollieres, S. Vujovic, M. Rees and S. Rozenberg (2011). "EMAS position statement: Bone densitometry screening for osteoporosis." *Maturitas* 68(1): 98-101.

Bromberger, J. T. and H. M. Kravitz (2011). "Mood and menopause: findings from the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) over 10 years." *Obstet Gynecol Clin North Am* 38(3): 609-625.

Buggia-Prevot, V., J. Sevalle, S. Rossner and F. Checler (2008). "NF $\kappa$ B-dependent control of BACE1 promoter transactivation by Abeta42." *J Biol Chem* 283(15): 10037-10047.

Cagnacci, A. and M. Venier (2019). "The Controversial History of Hormone Replacement Therapy." *Medicina (Kaunas)* 55(9).

Calderon-Margalit, R., S. M. Schwartz, M. F. Wellons, C. E. Lewis, M. L. Daviglius, P. J. Schreiner, O. D. Williams, B. Sternfeld, J. J. Carr, D. H. O'Leary, S. Sidney, Y. Friedlander and D. S. Siscovick (2010). "Prospective association of serum androgens and sex hormone-binding globulin with subclinical cardiovascular disease in young adult women: the "Coronary Artery Risk Development in Young Adults" women's study." *J Clin Endocrinol Metab* 95(9): 4424-4431.



Canobbio, I., S. Catricalà, L. G. Di Pasqua, G. Guidetti, A. Consonni, D. Manganaro and M. Torti (2013). "Immobilized amyloid A $\beta$  peptides support platelet adhesion and activation." *FEBS Lett* 587(16): 2606-2611.

Caruso Bavisotto, C., G. Alberti, A. M. Vitale, L. Paladino, C. Campanella, F. Rappa, M. Gorska, E. Conway de Macario, F. Cappello, A. J. L. Macario and A. Marino Gammazza (2020). "Hsp60 Post-translational Modifications: Functional and Pathological Consequences." *Frontiers in Molecular Biosciences* 7.

Chen, G. F., T. H. Xu, Y. Yan, Y. R. Zhou, Y. Jiang, K. Melcher and H. E. Xu (2017). "Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development." *Acta Pharmacol Sin* 38(9): 1205-1235.

Cheng, X., P. He, H. Yao, Q. Dong, R. Li and Y. Shen (2014). "Occludin deficiency with BACE1 elevation in cerebral amyloid angiopathy." *Neurology* 82(19): 1707-1715.

Chiu, C., M. C. Miller, R. Monahan, D. P. Osgood, E. G. Stopa and G. D. Silverberg (2015). "P-glycoprotein expression and amyloid accumulation in human aging and Alzheimer's disease: preliminary observations." *Neurobiol Aging* 36(9): 2475-2482.

Cho, H. J., S. K. Kim, S. M. Jin, E. M. Hwang, Y. S. Kim, K. Huh and I. Mook-Jung (2007). "IFN-gamma-induced BACE1 expression is mediated by activation of JAK2 and ERK1/2 signaling pathways and direct binding of STAT1 to BACE1 promoter in astrocytes." *Glia* 55(3): 253-262.

Christensen, M. A., W. Zhou, H. Qing, A. Lehman, S. Philipsen and W. Song (2004). "Transcriptional regulation of BACE1, the beta-amyloid precursor protein beta-secretase, by Sp1." *Mol Cell Biol* 24(2): 865-874.

Cignarella, A., M. Kratz and C. Bolego (2010). "Emerging role of estrogen in the control of cardiometabolic disease." *Trends Pharmacol Sci* 31(4): 183-189.

Coelho, V. and A. M. Faria (2011). "HSP60: issues and insights on its therapeutic use as an immunoregulatory agent." *Front Immunol* 2: 97.

Collins, P., G. Rosano, C. Casey, C. Daly, M. Gambacciani, P. Hadji, R. Kaaja, T. Mikkola, S. Palacios, R. Preston, T. Simon, J. Stevenson and M. Stramba-Badiale (2007). "Management of cardiovascular risk in the peri-menopausal woman: a

consensus statement of European cardiologists and gynaecologists." *Eur Heart J* 28(16): 2028-2040.

Coma, M., F. X. Guix, G. Ill-Raga, I. Uribesalgo, F. Alameda, M. A. Valverde and F. J. Muñoz (2008). "Oxidative stress triggers the amyloidogenic pathway in human vascular smooth muscle cells." *Neurobiol Aging* 29(7): 969-980.

Coronel, R., A. Bernabeu-Zornoza, C. Palmer, M. Muñoz-Moreno, A. Zambrano, E. Cano and I. Liste (2018). "Role of Amyloid Precursor Protein (APP) and Its Derivatives in the Biology and Cell Fate Specification of Neural Stem Cells." *Mol Neurobiol* 55(9): 7107-7117.

Cosma, M., J. Bailey, J. M. Miles, C. Y. Bowers and J. D. Veldhuis (2008). "Pituitary and/or peripheral estrogen-receptor alpha regulates follicle-stimulating hormone secretion, whereas central estrogenic pathways direct growth hormone and prolactin secretion in postmenopausal women." *J Clin Endocrinol Metab* 93(3): 951-958.

Creatsa, M., E. Armeni, K. Stamatelopoulos, D. Rizos, G. Georgiopoulos, M. Kazani, A. Alexandrou, S. Dendrinou, A. Augoulea, C. Papamichael and I. Lambrinouadaki (2012). "Circulating androgen levels are associated with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in healthy recently menopausal women." *Metabolism* 61(2): 193-201.

Cruz-Jentoft, A. J., G. Bahat, J. Bauer, Y. Boirie, O. Bruyere, T. Cederholm, C. Cooper, F. Landi, Y. Rolland, A. A. Sayer, S. M. Schneider, C. C. Sieber, E. Topinkova, M. Vandewoude, M. Visser and M. Zamboni (2019). "Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis." *Age Ageing* 48(4): 601.

Cruz-Jentoft, A. J., G. Bahat, J. Bauer, Y. Boirie, O. Bruyère, T. Cederholm, C. Cooper, F. Landi, Y. Rolland, A. A. Sayer, S. M. Schneider, C. C. Sieber, E. Topinkova, M. Vandewoude, M. Visser and M. Zamboni (2019). "Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis." *Age Ageing* 48(1): 16-31.

Davignon, J. and P. Ganz (2004). "Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis." *Circulation* 109(23 Suppl 1): Ii27-32.

Davis, S. R., I. Lambrinouadaki, M. Lumsden, G. D. Mishra, L. Pal, M. Rees, N. Santoro and T. Simoncini (2015). "Menopause." *Nat Rev Dis Primers* 1: 15004.

- Dawkins, E. and D. H. Small (2014). "Insights into the physiological function of the  $\beta$ -amyloid precursor protein: beyond Alzheimer's disease." *J Neurochem* 129(5): 756-769.
- de Bruijn, R. F. and M. A. Ikram (2014). "Cardiovascular risk factors and future risk of Alzheimer's disease." *BMC Med* 12: 130.
- Deng, X., J. Zhang, Y. Liu, L. Chen and C. Yu (2017). "TNF- $\alpha$  regulates the proteolytic degradation of ST6Gal-1 and endothelial cell-cell junctions through upregulating expression of BACE1." *Sci Rep* 7: 40256.
- Deniset, J. F., T. E. Hedley, M. Hlaváčková, M. N. Chahine, E. Dibrov, K. O'Hara, G. G. Maddaford, D. Nelson, T. G. Maddaford, R. Fandrich, E. Kardami and G. N. Pierce (2018). "Heat shock protein 60 involvement in vascular smooth muscle cell proliferation." *Cell Signal* 47: 44-51.
- Ding, Z., S. Liu, X. Deng, Y. Fan, X. Wang and J. L. Mehta (2015). "Hemodynamic shear stress modulates endothelial cell autophagy: Role of LOX-1." *Int J Cardiol* 184: 86-95.
- Ding, Z., S. Liu, X. Wang, X. Deng, Y. Fan, J. Shahanawaz, R. J. Shmookler Reis, K. I. Varughese, T. Sawamura and J. L. Mehta (2015). "Cross-talk between LOX-1 and PCSK9 in vascular tissues." *Cardiovasc Res* 107(4): 556-567.
- Ding, Z., S. Liu, X. Wang, P. Mathur, Y. Dai, S. Theus, X. Deng, Y. Fan and J. L. Mehta (2016). "Cross-Talk Between PCSK9 and Damaged mtDNA in Vascular Smooth Muscle Cells: Role in Apoptosis." *Antioxid Redox Signal* 25(18): 997-1008.
- Duan, Y., H. Tang, K. Mitchell-Silbaugh, X. Fang, Z. Han and K. Ouyang (2020). "Heat Shock Protein 60 in Cardiovascular Physiology and Diseases." *Front Mol Biosci* 7: 73.
- Dumas de la Roque, E., J. P. Savineau and S. Bonnet (2010). "Dehydroepiandrosterone: A new treatment for vascular remodeling diseases including pulmonary arterial hypertension." *Pharmacol Ther* 126(2): 186-199.
- El Khoudary, S. R., A. Nasr, J. Billheimer, M. M. Brooks, D. McConnell, S. Crawford, T. J. Orchard, D. J. Rader and K. A. Matthews (2022). "Associations of Endogenous

Hormones With HDL Novel Metrics Across the Menopause Transition: The SWAN HDL Study." *J Clin Endocrinol Metab* 107(1): e303-e314.

Evangelista, O. and M. A. McLaughlin (2009). "Review of cardiovascular risk factors in women." *Gend Med* 6 Suppl 1: 17-36.

Feng, S., N. Bowden, M. Fragiadaki, C. Souilhol, S. Hsiao, M. Mahmoud, S. Allen, D. Pirri, B. T. Ayllon, S. Akhtar, A. A. R. Thompson, H. Jo, C. Weber, V. Ridger, A. Schober and P. C. Evans (2017). "Mechanical Activation of Hypoxia-Inducible Factor 1 $\alpha$  Drives Endothelial Dysfunction at Atheroprone Sites." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 37(11): 2087-2101.

Friedrich, R. P., K. Tepper, R. Röncke, M. Soom, M. Westermann, K. Reymann, C. Kaether and M. Fändrich (2010). "Mechanism of amyloid plaque formation suggests an intracellular basis of Abeta pathogenicity." *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(5): 1942-1947.

Garcia-Cardena, G., J. Comander, K. R. Anderson, B. R. Blackman and M. A. Gimbrone, Jr. (2001). "Biomechanical activation of vascular endothelium as a determinant of its functional phenotype." *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(8): 4478-4485.

Ge, Y. W., B. Maloney, K. Sambamurti and D. K. Lahiri (2004). "Functional characterization of the 5' flanking region of the BACE gene: identification of a 91 bp fragment involved in basal level of BACE promoter expression." *Faseb j* 18(9): 1037-1039.

Genazzani, A. R., M. Gambacciani and T. Simoncini (2007). "Menopause and aging, quality of life and sexuality." *Climacteric* 10(2): 88-96.

Gentile, M. T., C. Vecchione, A. Maffei, A. Aretini, G. Marino, R. Poulet, L. Capobianco, G. Selvetella and G. Lembo (2004). "Mechanisms of soluble beta-amyloid impairment of endothelial function." *J Biol Chem* 279(46): 48135-48142.

Georgiopoulos, G. A., I. Lambrinoudaki, F. Athanasouli, E. Armeni, D. Rizos, M. Kazani, M. Karamanou, E. Manios, A. Augoulea, K. Stellos, C. Papamichael and K. Stamatelopoulos (2016). "Free androgen index as a predictor of blood pressure progression and accelerated vascular aging in menopause." *Atherosclerosis* 247: 177-183.

Gervais, F. G., D. Xu, G. S. Robertson, J. P. Vaillancourt, Y. Zhu, J. Huang, A. LeBlanc, D. Smith, M. Rigby, M. S. Shearman, E. E. Clarke, H. Zheng, L. H. Van Der Ploeg, S. C. Ruffolo, N. A. Thornberry, S. Xanthoudakis, R. J. Zamboni, S. Roy and D. W. Nicholson (1999). "Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation." *Cell* 97(3): 395-406.

Golden, S. H., A. Maguire, J. Ding, J. R. Crouse, J. A. Cauley, H. Zacur and M. Szklo (2002). "Endogenous postmenopausal hormones and carotid atherosclerosis: a case-control study of the atherosclerosis risk in communities cohort." *Am J Epidemiol* 155(5): 437-445.

Gonzalez-Velasquez, F. J. and M. A. Moss (2008). "Soluble aggregates of the amyloid-beta protein activate endothelial monolayers for adhesion and subsequent transmigration of monocyte cells." *J Neurochem* 104(2): 500-513.

González, F., N. S. Rote, J. Minium and J. P. Kirwan (2009). "Evidence of proatherogenic inflammation in polycystic ovary syndrome." *Metabolism* 58(7): 954-962.

González, F., N. S. Rote, J. Minium, A. L. Weaver and J. P. Kirwan (2010). "Elevated circulating levels of macrophage migration inhibitory factor in polycystic ovary syndrome." *Cytokine* 51(3): 240-244.

Goodman, N. F., R. H. Cobin, S. B. Ginzburg, I. A. Katz and D. E. Woode (2011). "American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and treatment of menopause: executive summary of recommendations." *Endocr Pract* 17(6): 949-954.

Granger, D. N. and P. R. Kvietys (2015). "Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept." *Redox Biol* 6: 524-551.

Greco, S., G. Zaccagnini, P. Fuschi, C. Voellenkle, M. Carrara, I. Sadeghi, C. Bearzi, B. Maimone, S. Castelvechchio, K. Stellos, C. Gaetano, L. Menicanti and F. Martelli (2017). "Increased BACE1-AS long noncoding RNA and  $\beta$ -amyloid levels in heart failure." *Cardiovasc Res* 113(5): 453-463.

Grundtman, C., S. B. Kreutmayer, G. Almanzar, M. C. Wick and G. Wick (2011). "Heat shock protein 60 and immune inflammatory responses in atherosclerosis." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31(5): 960-968.

Haffner, S. M., S. Lehto, T. Rönnemaa, K. Pyörälä and M. Laakso (1998). "Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction." *N Engl J Med* 339(4): 229-234.

Hale, G. E., X. Zhao, C. L. Hughes, H. G. Burger, D. M. Robertson and I. S. Fraser (2007). "Endocrine features of menstrual cycles in middle and late reproductive age and the menopausal transition classified according to the Staging of Reproductive Aging Workshop (STRAW) staging system." *J Clin Endocrinol Metab* 92(8): 3060-3067.

Harlow, S. D., M. Gass, J. E. Hall, R. Lobo, P. Maki, R. W. Rebar, S. Sherman, P. M. Sluss and T. J. de Villiers (2012). "Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging." *J Clin Endocrinol Metab* 97(4): 1159-1168.

He, H., F. Yang, X. Liu, X. Zeng, Q. Hu, Q. Zhu and B. Tu (2007). "Sex hormone ratio changes in men and postmenopausal women with coronary artery disease." *Menopause* 14(3 Pt 1): 385-390.

Henderson, B., M. A. Fares and P. A. Lund (2013). "Chaperonin 60: a paradoxical, evolutionarily conserved protein family with multiple moonlighting functions." *Biol Rev Camb Philos Soc* 88(4): 955-987.

Hendrikx, D., A. Smits, M. Lavanga, O. De Wel, L. Thewissen, K. Jansen, A. Caicedo, S. Van Huffel and G. Naulaers (2019). "Measurement of Neurovascular Coupling in Neonates." *Front Physiol* 10: 65.

Hollander, J. M., K. M. Lin, B. T. Scott and W. H. Dillmann (2003). "Overexpression of PHGPx and HSP60/10 protects against ischemia/reoxygenation injury." *Free Radic Biol Med* 35(7): 742-751.

Iadecola, C. (2004). "Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease." *Nat Rev Neurosci* 5(5): 347-360.

- Iadecola, C. (2005). "Rescuing troubled vessels in Alzheimer disease." *Nat Med* 11(9): 923-924.
- Itkin, A., V. Dupres, Y. F. Dufrêne, B. Bechinger, J. M. Ruyschaert and V. Raussens (2011). "Calcium ions promote formation of amyloid  $\beta$ -peptide (1-40) oligomers causally implicated in neuronal toxicity of Alzheimer's disease." *PLoS One* 6(3): e18250.
- Janelidze, S., E. Stomrud, S. Palmqvist, H. Zetterberg, D. van Westen, A. Jeromin, L. Song, D. Hanlon, C. A. Tan Hehir, D. Baker, K. Blennow and O. Hansson (2016). "Plasma  $\beta$ -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease." *Sci Rep* 6: 26801.
- Jans, D. M., W. Martinet, T. J. Van De Parre, A. G. Herman, H. Bult, M. M. Kockx and G. R. De Meyer (2006). "Processing of amyloid precursor protein as a biochemical link between atherosclerosis and Alzheimer's disease." *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 6(1): 21-34.
- Jarre, A., N. S. Gowert, L. Donner, P. Münzer, M. Klier, O. Borst, M. Schaller, F. Lang, C. Korth and M. Elvers (2014). "Pre-activated blood platelets and a pro-thrombotic phenotype in APP23 mice modeling Alzheimer's disease." *Cell Signal* 26(9): 2040-2050.
- Kalogeris, T., C. P. Baines, M. Krenz and R. J. Korthuis (2012). "Cell biology of ischemia/reperfusion injury." *Int Rev Cell Mol Biol* 298: 229-317.
- Kampinga, H. H., J. Hageman, M. J. Vos, H. Kubota, R. M. Tanguay, E. A. Bruford, M. E. Cheetham, B. Chen and L. E. Hightower (2009). "Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins." *Cell Stress Chaperones* 14(1): 105-111.
- Kanis, J. A., C. Cooper, R. Rizzoli and J. Y. Reginster (2019). "Executive summary of the European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women." *Calcif Tissue Int* 104(3): 235-238.
- Kanis, J. A., A. Oden, E. V. McCloskey, H. Johansson, D. A. Wahl and C. Cooper (2012). "A systematic review of hip fracture incidence and probability of fracture worldwide." *Osteoporos Int* 23(9): 2239-2256.

Kanis, J. A. o. b. o. t. W. H. O. S. G. (2008). Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. Technical Report. WHO Collaborating Centre, University of Sheffield, UK.

Kannel, W. B., M. C. Hjortland, P. M. McNamara and T. Gordon (1976). "Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study." *Ann Intern Med* 85(4): 447-452.

Khanna, A., P. A. Cowled and R. A. Fitridge (2005). "Nitric oxide and skeletal muscle reperfusion injury: current controversies (research review)." *J Surg Res* 128(1): 98-107.

Khatibi, A., C. D. Agardh, P. Nyberg, J. Lidfeldt and G. Samsioe (2007). "Blood pressure in middle-aged women: are androgens involved? A population-based study of Swedish women: the Women's Health in the Lund Area study." *J Hypertens* 25(10): 2044-2050.

Kim, J., J. M. Basak and D. M. Holtzman (2009). "The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease." *Neuron* 63(3): 287-303.

Kim, Y. S., J. M. Koh, Y. S. Lee, B. J. Kim, S. H. Lee, K. U. Lee and G. S. Kim (2009). "Increased circulating heat shock protein 60 induced by menopause, stimulates apoptosis of osteoblast-lineage cells via up-regulation of toll-like receptors." *Bone* 45(1): 68-76.

Knowlton, A. A. (2017). "Paying for the Tolls: The High Cost of the Innate Immune System for the Cardiac Myocyte." *Adv Exp Med Biol* 1003: 17-34.

Krämer, L. M., J. Brettschneider, J. K. Lennerz, D. Walcher, L. Fang, A. Rosenbohm, K. Balakrishnan, J. Benckendorff, P. Möller, S. Just, M. Willem, A. C. Ludolph and D.

R. Thal (2018). "Amyloid precursor protein-fragments-containing inclusions in cardiomyocytes with basophilic degeneration and its association with cerebral amyloid angiopathy and myocardial fibrosis." *Sci Rep* 8(1): 16594.

Krentz, A. J., D. von Mühlen and E. Barrett-Connor (2007). "Searching for polycystic ovary syndrome in postmenopausal women: evidence of a dose-effect association with prevalent cardiovascular disease." *Menopause* 14(2): 284-292.



Krishnan-Sivadoss, I., I. A. Mijares-Rojas, R. A. Villarreal-Leal, G. Torre-Amione, A. A. Knowlton and C. E. Guerrero-Beltrán (2021). "Heat shock protein 60 and cardiovascular diseases: An intricate love-hate story." *Med Res Rev* 41(1): 29-71.

Kucheryavykh, L. Y., J. Dávila-Rodríguez, D. E. Rivera-Aponte, L. V. Zueva, A. V. Washington, P. Sanabria and M. Y. Inyushin (2017). "Platelets are responsible for the accumulation of  $\beta$ -amyloid in blood clots inside and around blood vessels in mouse brain after thrombosis." *Brain Res Bull* 128: 98-105.

Kurina, L. M., M. Gulati, S. A. Everson-Rose, P. J. Chung, K. Karavolos, N. J. Cohen, N. Kandula, R. Lukezic, S. A. Dugan, M. Sowers, L. H. Powell and K. E. Pickett (2004). "The effect of menopause on grip and pinch strength: results from the Chicago, Illinois, site of the Study of Women's Health Across the Nation." *Am J Epidemiol* 160(5): 484-491.

Kwak, M., C. Hong, J. Myeong, E. Y. J. Park, J. H. Jeon and I. So (2018). " $G\alpha(i)$ -mediated TRPC4 activation by polycystin-1 contributes to endothelial function via STAT1 activation." *Sci Rep* 8(1): 3480.

Labrie, F., C. Martel and J. Balsler (2011). "Wide distribution of the serum dehydroepiandrosterone and sex steroid levels in postmenopausal women: role of the ovary?" *Menopause* 18(1): 30-43.

Lamb, B. T., L. M. Call, H. H. Slunt, K. A. Bardel, A. M. Lawler, C. B. Eckman, S. G. Younkin, G. Holtz, S. L. Wagner, D. L. Price, S. S. Sisodia and J. D. Gearhart (1997). "Altered metabolism of familial Alzheimer's disease-linked amyloid precursor protein variants in yeast artificial chromosome transgenic mice." *Hum Mol Genet* 6(9): 1535-1541.

Lambrinoudaki, I. (2011). "Cardiovascular risk in postmenopausal women with the polycystic ovary syndrome." *Maturitas* 68(1): 13-16.

Lambrinoudaki, I., E. Armeni, D. Goulis, S. Bretz, I. Ceausu, F. Durmusoglu, R. Erkkola, I. Fistonc, M. Gambacciani, M. Geukes, H. Hamoda, C. Hartley, A. L. Hirschberg, B. Meczekalski, N. Mendoza, A. Mueck, A. Smetnik, P. Stute, M. van Trotsenburg and M. Rees (2022). "Menopause, wellbeing and health: A care pathway from the European Menopause and Andropause Society." *Maturitas* 163: 1-14.

Lamoke, F., V. Mazzone, T. Persichini, A. Maraschi, M. B. Harris, R. C. Venema, M. Colasanti, M. Gliozzi, C. Muscoli, M. Bartoli and V. Mollace (2015). "Amyloid  $\beta$  peptide-induced inhibition of endothelial nitric oxide production involves oxidative stress-mediated constitutive eNOS/HSP90 interaction and disruption of agonist-mediated Akt activation." *J Neuroinflammation* 12: 84.

Lange-Dohna, C., U. Zeitschel, F. Gaunitz, J. R. Perez-Polo, V. Bigl and S. Rossner (2003). "Cloning and expression of the rat BACE1 promoter." *J Neurosci Res* 73(1): 73-80.

Laughlin, G. A., V. Goodell and E. Barrett-Connor (2010). "Extremes of endogenous testosterone are associated with increased risk of incident coronary events in older women." *J Clin Endocrinol Metab* 95(2): 740-747.

Lobo, R. A. (2017). "Hormone-replacement therapy: current thinking." *Nat Rev Endocrinol* 13(4): 220-231.

Long, M. E., S. S. Faubion, K. L. MacLaughlin, S. Pruthi and P. M. Casey (2015). "Contraception and hormonal management in the perimenopause." *J Womens Health (Larchmt)* 24(1): 3-10.

Lowe, D. A., K. A. Baltgalvis and S. M. Greising (2010). "Mechanisms behind estrogen's beneficial effect on muscle strength in females." *Exerc Sport Sci Rev* 38(2): 61-67.

Lutz, J., K. Thürmel and U. Heemann (2010). "Anti-inflammatory treatment strategies for ischemia/reperfusion injury in transplantation." *J Inflamm (Lond)* 7: 27.

Makras, P., A. D. Anastasilakis, G. Antypas, E. Chronopoulos, E. G. Kaskani, A. Matsouka, D. K. Patrikos, K. D. Stathopoulos, S. Tournis, G. Trovas and C. Kosmidis (2019). "The 2018 Guidelines for the diagnosis and treatment of osteoporosis in Greece." *Arch Osteoporos* 14(1): 39.

Maturana, M. A., V. Breda, F. Lhullier and P. M. Spritzer (2008). "Relationship between endogenous testosterone and cardiovascular risk in early postmenopausal women." *Metabolism* 57(7): 961-965.

McCrohon, J. A., W. Jessup, D. J. Handelsman and D. S. Celermajer (1999). "Androgen exposure increases human monocyte adhesion to vascular endothelium and endothelial cell expression of vascular cell adhesion molecule-1." *Circulation* 99(17): 2317-2322.

Meakin, P. J., B. M. Coull, Z. Tuharska, C. McCaffery, I. Akoumianakis, C. Antoniadis, J. Brown, K. J. Griffin, F. Platt, C. H. Ozber, N. Y. Yuldasheva, N. Makava, A. Skromna, A. Prescott, A. D. McNeilly, M. Siddiqui, C. N. Palmer, F. Khan and M. L. Ashford (2020). "Elevated circulating amyloid concentrations in obesity and diabetes promote vascular dysfunction." *J Clin Invest* 130(8): 4104-4117.

Messier, V., R. Rabasa-Lhoret, S. Barbat-Artigas, B. Elisha, A. D. Karelis and M. Aubertin-Leheudre (2011). "Menopause and sarcopenia: A potential role for sex hormones." *Maturitas* 68(4): 331-336.

Michos, E. D., D. Vaidya, S. M. Gapstur, P. J. Schreiner, S. H. Golden, N. D. Wong, M. H. Criqui and P. Ouyang (2008). "Sex hormones, sex hormone binding globulin, and abdominal aortic calcification in women and men in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA)." *Atherosclerosis* 200(2): 432-438.

Mili, N., S. A. Paschou, A. Armeni, N. Georgopoulos, D. G. Goulis and I. Lambrinoudaki (2021). "Genitourinary syndrome of menopause: a systematic review on prevalence and treatment." *Menopause* 28(6): 706-716.

Miller, W. L. (2013). "Steroid hormone synthesis in mitochondria." *Mol Cell Endocrinol* 379(1-2): 62-73.

Moghimpour Bijani, F., J. G. Vallejo and N. Rezaei (2012). "Toll-like receptor signaling pathways in cardiovascular diseases: challenges and opportunities." *Int Rev Immunol* 31(5): 379-395.

Nacci, C., M. Tarquinio, L. De Benedictis, A. Mauro, A. Zigrino, M. R. Carratù, M. J. Quon and M. Montagnani (2009). "Endothelial dysfunction in mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes is opposed by compensatory overexpression of cyclooxygenase-2 in the vasculature." *Endocrinology* 150(2): 849-861.

Nappi, R. E., P. Chedraui, I. Lambrinoudaki and T. Simoncini (2022). "Menopause: a cardiometabolic transition." *Lancet Diabetes Endocrinol* 10(6): 442-456.

Natoli, A. K., T. L. Medley, A. A. Ahimastos, B. G. Drew, D. J. Thearle, R. J. Dilley and B. A. Kingwell (2005). "Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression." *Hypertension* 46(5): 1129-1134.

Neuer, A., S. D. Spandorfer, P. Giraldo, S. Dieterle, Z. Rosenwaks and S. S. Witkin (2000). "The role of heat shock proteins in reproduction." *Hum Reprod Update* 6(2): 149-159.

Nguyen, K. V. (2019). " $\beta$ -Amyloid precursor protein (APP) and the human diseases." *AIMS Neurosci* 6(4): 273-281.

O'Neill, S. and J. Eden (2017). "The pathophysiology of menopausal symptoms." *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine* 27(10): 303-310.

O, C. P. and I. Manyonda (2022). "The surgical menopause." *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 81: 111-118.

Okamoto, T., R. Ishida, H. Yamamoto, M. Tanabe-Ishida, A. Haga, H. Takahashi, K. Takahashi, D. Goto, E. Grave and H. Itoh (2015). "Functional structure and physiological functions of mammalian wild-type HSP60." *Arch Biochem Biophys* 586: 10-19.

Orshal, J. M. and R. A. Khalil (2004). "Gender, sex hormones, and vascular tone." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286(2): R233-249.

Ouyang, P., D. Vaidya, A. Dobs, S. H. Golden, M. Szklo, S. R. Heckbert, P. Kopp and S. M. Gapstur (2009). "Sex hormone levels and subclinical atherosclerosis in postmenopausal women: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis." *Atherosclerosis* 204(1): 255-261.

Papafaklis, M. I., S. Takahashi, A. P. Antoniadis, A. U. Coskun, M. Tsuda, S. Mizuno, I. Andreou, S. Nakamura, Y. Makita, A. Hirohata, S. Saito, C. L. Feldman and P. H. Stone (2015). "Effect of the local hemodynamic environment on the de novo development and progression of eccentric coronary atherosclerosis in humans: insights from PREDICTION." *Atherosclerosis* 240(1): 205-211.

Patel, S. M., S. J. Ratcliffe, M. P. Reilly, R. Weinstein, S. Bhasin, M. R. Blackman, J. A. Cauley, K. Sutton-Tyrrell, J. Robbins, L. P. Fried and A. R. Cappola (2009). "Higher serum testosterone concentration in older women is associated with insulin resistance, metabolic syndrome, and cardiovascular disease." *J Clin Endocrinol Metab* 94(12): 4776-4784.

Pellegrini, L., B. J. Passer, M. Tabaton, J. K. Ganjei and L. D'Adamio (1999). "Alternative, non-secretase processing of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein during apoptosis by caspase-6 and -8." *J Biol Chem* 274(30): 21011-21016.

Pérez-López, F. R., L. Larrad-Mur, A. Kallen, P. Chedraui and H. S. Taylor (2010). "Gender differences in cardiovascular disease: hormonal and biochemical influences." *Reprod Sci* 17(6): 511-531.

Pluta, R. (2002). "Glial expression of the beta-amyloid peptide in cardiac arrest." *J Neurol Sci* 203-204: 277-280.

Portman, D. J. and M. L. Gass (2014). "Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society." *J Sex Med* 11(12): 2865-2872.

Prabhakar, N. R. and G. L. Semenza (2012). "Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2." *Physiol Rev* 92(3): 967-1003.

Puglielli, L., A. L. Friedlich, K. D. Setchell, S. Nagano, C. Opazo, R. A. Cherny, K. J. Barnham, J. D. Wade, S. Melov, D. M. Kovacs and A. I. Bush (2005). "Alzheimer disease beta-amyloid activity mimics cholesterol oxidase." *J Clin Invest* 115(9): 2556-2563.

Puig, K. L. and C. K. Combs (2013). "Expression and function of APP and its metabolites outside the central nervous system." *Exp Gerontol* 48(7): 608-611.

Rajtar-Ciosek, A., O. Kacalska-Janssen, A. Zmaczyński, J. Wyroba, R. Tomczyk, J. Wiatr, A. Gałuszka-Bednarczyk, T. Bereza, T. Milewicz and J. Krzysiek (2015). "Reduction in the level of antibodies against heat shock proteins 60 during different

hormonal protocols in postmenopausal women." *Menopause Review/Przegląd Menopauzalny* 14(4): 218-222.

Refolo, L. M., B. Malester, J. LaFrancois, T. Bryant-Thomas, R. Wang, G. S. Tint, K. Sambamurti, K. Duff and M. A. Pappolla (2000). "Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model." *Neurobiol Dis* 7(4): 321-331.

Rhodin, J. A. and T. Thomas (2001). "A vascular connection to Alzheimer's disease." *Microcirculation* 8(4): 207-220.

Roher, A. E., C. L. Esh, T. A. Kokjohn, E. M. Castaño, G. D. Van Vickle, W. M. Kalback, R. L. Patton, D. C. Luehrs, I. D. Dausgs, Y. M. Kuo, M. R. Emmerling, H. Soares, J. F. Quinn, J. Kaye, D. J. Connor, N. B. Silverberg, C. H. Adler, J. D. Seward, T. G. Beach and M. N. Sabbagh (2009). "Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease." *Alzheimers Dement* 5(1): 18-29.

Rossmann, W. G. and W. Ruebberdt (2009). "What causes hot flushes? The neuroendocrine origin of vasomotor symptoms in the menopause." *Gynecol Endocrinol* 25(5): 303-314.

Safronova, O. and I. Morita (2010). "Transcriptome remodeling in hypoxic inflammation." *J Dent Res* 89(5): 430-444.

Salminen, A., A. Kauppinen and K. Kaarniranta (2017). "Hypoxia/ischemia activate processing of Amyloid Precursor Protein: impact of vascular dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease." *J Neurochem* 140(4): 536-549.

Schenck-Gustafsson, K., M. Brincat, C. T. Erel, M. Gambacciani, I. Lambrinoudaki, M. H. Moen, F. Tremollieres, S. Vujovic, S. Rozenberg and M. Rees (2011). "EMAS position statement: Managing the menopause in the context of coronary heart disease." *Maturitas* 68(1): 94-97.

Schindler, A. E. (2006). "Climacteric symptoms and hormones." *Gynecol Endocrinol* 22(3): 151-154.

SenBanerjee, S., Z. Lin, G. B. Atkins, D. M. Greif, R. M. Rao, A. Kumar, M. W. Feinberg, Z. Chen, D. I. Simon, F. W. Lusinskas, T. M. Michel, M. A. Gimbrone, Jr., G. García-Cardeña and M. K. Jain (2004). "KLF2 Is a novel transcriptional regulator of endothelial proinflammatory activation." *J Exp Med* 199(10): 1305-1315.

Sievers, C., J. Klotsche, L. Pieper, H. J. Schneider, W. März, H. U. Wittchen, G. K. Stalla and C. Mantzoros (2010). "Low testosterone levels predict all-cause mortality and cardiovascular events in women: a prospective cohort study in German primary care patients." *Eur J Endocrinol* 163(4): 699-708.

Simoncini, T., A. Hafezi-Moghadam, D. P. Brazil, K. Ley, W. W. Chin and J. K. Liao (2000). "Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase." *Nature* 407(6803): 538-541.

Sinno, A. K., J. Pinkerton, T. Febbraro, N. Jones, N. Khanna, S. Temkin, D. Iglesias and B. Pothuri (2020). "Hormone therapy (HT) in women with gynecologic cancers and in women at high risk for developing a gynecologic cancer: A Society of Gynecologic Oncology (SGO) clinical practice statement: This practice statement has been endorsed by The North American Menopause Society." *Gynecol Oncol* 157(2): 303-306.

Siriussawakul, A., A. Zaky and J. D. Lang (2010). "Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion injury." *World J Gastroenterol* 16(48): 6079-6086.

Song, B., Q. Ao, Y. Niu, Q. Shen, H. Zuo, X. Zhang and Y. Gong (2013). "Amyloid beta-peptide worsens cognitive impairment following cerebral ischemia-reperfusion injury." *Neural Regen Res* 8(26): 2449-2457.

Stakos, D. A., K. Stamatelopoulos, D. Bampatsias, M. Sachse, E. Zormpas, N. I. Vlachogiannis, S. Tual-Chalot and K. Stellos (2020). "The Alzheimer's Disease Amyloid-Beta Hypothesis in Cardiovascular Aging and Disease: JACC Focus Seminar." *J Am Coll Cardiol* 75(8): 952-967.

Stamatelopoulos, K., D. Sibbing, L. S. Rallidis, G. Georgiopoulos, D. Stakos, S. Braun, A. Gatsiou, K. Sopova, C. Kotakos, C. Varounis, C. C. Tellis, E. Kastritis, M. Alevizaki, A. D. Tselepis, P. Alexopoulos, C. Laske, T. Keller, A. Kastrati, S. Dimmeler, A. M. Zeiher and K. Stellos (2015). "Amyloid-beta (1-40) and the risk of

death from cardiovascular causes in patients with coronary heart disease." *J Am Coll Cardiol* 65(9): 904-916.

Suetsugu, M., K. Takebayashi and Y. Aso (2007). "Association between diabetic microangiopathy and vascular endothelial function evaluated by flow-mediated vasodilatation in patients with type 2 diabetes." *Int J Clin Pract* 61(6): 920-926.

Sun, X., G. He, H. Qing, W. Zhou, F. Dobie, F. Cai, M. Staufenbiel, L. E. Huang and W. Song (2006). "Hypoxia facilitates Alzheimer's disease pathogenesis by up-regulating BACE1 gene expression." *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(49): 18727-18732.

Tamagno, E., P. Bardini, A. Obbili, A. Vitali, R. Borghi, D. Zaccheo, M. A. Pronzato, O. Danni, M. A. Smith, G. Perry and M. Tabaton (2002). "Oxidative stress increases expression and activity of BACE in NT2 neurons." *Neurobiol Dis* 10(3): 279-288.

Tan, J., T. Town, Z. Suo, Y. Wu, S. Song, A. Kundtz, J. Kroeger, J. Humphrey, F. Crawford and M. Mullan (1999). "Induction of CD40 on human endothelial cells by Alzheimer's beta-amyloid peptides." *Brain Res Bull* 50(2): 143-148.

Tarasoff-Conway, J. M., R. O. Carare, R. S. Osorio, L. Glodzik, T. Butler, E. Fieremans, L. Axel, H. Rusinek, C. Nicholson, B. V. Zlokovic, B. Frangione, K. Blennow, J. Ménard, H. Zetterberg, T. Wisniewski and M. J. de Leon (2015). "Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease." *Nat Rev Neurol* 11(8): 457-470.

Thijssen, D. H. J., R. M. Bruno, A. van Mil, S. M. Holder, F. Fajta, A. Greyling, P. L. Zock, S. Taddei, J. E. Deanfield, T. Luscher, D. J. Green and L. Ghiadoni (2019). "Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans." *Eur Heart J* 40(30): 2534-2547.

Thilo, F., B. J. Vorderwülbecke, A. Marki, K. Krueger, Y. Liu, D. Baumunk, A. Zakrzewicz and M. Tepel (2012). "Pulsatile atheroprone shear stress affects the expression of transient receptor potential channels in human endothelial cells." *Hypertension* 59(6): 1232-1240.

Thomas, T., G. Thomas, C. McLendon, T. Sutton and M. Mullan (1996). "beta-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage." *Nature* 380(6570): 168-171.



Tibolla, G., G. D. Norata, C. Meda, L. Arnaboldi, P. Uboldi, F. Piazza, C. Ferrarese, A. Corsini, A. Maggi, E. Vegeto and A. L. Catapano (2010). "Increased atherosclerosis and vascular inflammation in APP transgenic mice with apolipoprotein E deficiency." *Atherosclerosis* 210(1): 78-87.

Triggle, C. R. and H. Ding (2010). "A review of endothelial dysfunction in diabetes: a focus on the contribution of a dysfunctional eNOS." *J Am Soc Hypertens* 4(3): 102-115.

Troia, L., S. Martone, G. Morgante and S. Luisi (2021). "Management of perimenopause disorders: hormonal treatment." *Gynecol Endocrinol* 37(3): 195-200.

Troncone, L., M. Luciani, M. Coggins, E. H. Wilker, C. Y. Ho, K. E. Codispoti, M. P. Frosch, R. Kaye and F. Del Monte (2016). "A $\beta$  Amyloid Pathology Affects the Hearts of Patients With Alzheimer's Disease: Mind the Heart." *J Am Coll Cardiol* 68(22): 2395-2407.

Van De Parre, T. J., P. J. Guns, P. Fransen, W. Martinet, H. Bult, A. G. Herman and G. R. De Meyer (2011). "Attenuated atherogenesis in apolipoprotein E-deficient mice lacking amyloid precursor protein." *Atherosclerosis* 216(1): 54-58.

van Hinsbergh, V. W. and P. Koolwijk (2008). "Endothelial sprouting and angiogenesis: matrix metalloproteinases in the lead." *Cardiovasc Res* 78(2): 203-212.

Veldhuis, J. D., D. Erickson, R. Yang, P. Takahashi and C. Bowers (2016). "Endogenous Estrogen Regulates Somatostatin-Induced Rebound GH Secretion in Postmenopausal Women." *J Clin Endocrinol Metab* 101(11): 4298-4304.

Vesco, K. K., E. M. Haney, L. Humphrey, R. Fu and H. D. Nelson (2007). "Influence of menopause on mood: a systematic review of cohort studies." *Climacteric* 10(6): 448-465.

Vilasi, S., D. Bulone, C. Caruso Bavisotto, C. Campanella, A. Marino Gammazza, P. L. San Biagio, F. Cappello, E. Conway de Macario and A. J. L. Macario (2017). "Chaperonin of Group I: Oligomeric Spectrum and Biochemical and Biological Implications." *Front Mol Biosci* 4: 99.

Vitale, C., M. Fini, G. Speziale and S. Chierchia (2010). "Gender differences in the cardiovascular effects of sex hormones." *Fundam Clin Pharmacol* 24(6): 675-685.

Webber, L., M. Davies, R. Anderson, J. Bartlett, D. Braat, B. Cartwright, R. Cifkova, S. de Muinck Keizer-Schrama, E. Hogervorst, F. Janse, L. Liao, V. Vlaisavljevic, C. Zillikens and N. Vermeulen (2016). "ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency." *Hum Reprod* 31(5): 926-937.

Wick, C. (2016). "Tolerization against atherosclerosis using heat shock protein 60." *Cell Stress Chaperones* 21(2): 201-211.

Wick, G., B. Jakic, M. Buszko, M. C. Wick and C. Grundtman (2014). "The role of heat shock proteins in atherosclerosis." *Nat Rev Cardiol* 11(9): 516-529.

Wiesmann, M., A. J. Kiliaan and J. A. Claassen (2013). "Vascular aspects of cognitive impairment and dementia." *J Cereb Blood Flow Metab* 33(11): 1696-1706.

Wild, S., T. Pierpoint, P. McKeigue and H. Jacobs (2000). "Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study." *Clin Endocrinol (Oxf)* 52(5): 595-600.

Wright, M. E., J. Eng, J. Sherman, D. M. Hockenbery, P. S. Nelson, T. Galitski and R. Aebersold (2003). "Identification of androgen-coregulated protein networks from the microsomes of human prostate cancer cells." *Genome Biol* 5(1): R4.

Xu, J. and M. H. Zou (2009). "Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction." *Circulation* 120(13): 1266-1286.

Yanes, L. L. and J. F. Reckelhoff (2011). "Postmenopausal hypertension." *Am J Hypertens* 24(7): 740-749.

Yang, L., Y. Wang, Q. Zhang, Y. Lai, C. Li, Q. Zhang, W. Huang, Y. Duan, Z. Jiang, X. Li, Z. Cai, L. Mou and Y. Gui (2014). "Identification of Hsf1 as a novel androgen receptor-regulated gene in mouse Sertoli cells." *Mol Reprod Dev* 81(6): 514-523.

Yin, K. J., J. M. Lee, S. D. Chen, J. Xu and C. Y. Hsu (2002). "Amyloid-beta induces Smac release via AP-1/Bim activation in cerebral endothelial cells." *J Neurosci* 22(22): 9764-9770.

Yoshida, S., K. Aihara, H. Azuma, R. Uemoto, Y. Sumitomo-Ueda, S. Yagi, Y. Ikeda, T. Iwase, S. Nishio, H. Kawano, J. Miki, H. Yamada, Y. Hirata, M. Akaike, M. Sata and T. Matsumoto (2010). "Dehydroepiandrosterone sulfate is inversely associated with sex-dependent diverse carotid atherosclerosis regardless of endothelial function." *Atherosclerosis* 212(1): 310-315.

Zhao, Y., C. Zhang, X. Wei, P. Li, Y. Cui, Y. Qin, X. Wei, M. Jin, K. Kohama and Y. Gao (2015). "Heat shock protein 60 stimulates the migration of vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor 4 and ERK MAPK activation." *Sci Rep* 5: 15352.

Zhu, X. D., B. Bonet and R. H. Knopp (1997). "17beta-Estradiol, progesterone, and testosterone inversely modulate low-density lipoprotein oxidation and cytotoxicity in cultured placental trophoblast and macrophages." *Am J Obstet Gynecol* 177(1): 196-209.

Λαμπρινουδάκη, Ε. (2015). "Οδηγός εμμηνόπαυσης για επαγγελματίες υγείας."