

Universita Karlova Praha

1. lékařská fakulta

DISERTAČNÍ PRÁCE

**Metabolické aspekty hormonální substituční terapie
u postmenopauzálních žen**

MUDr. Tomáš Fait

Oborová rada: Experimentální chirurgie

Školitel: Doc. MUDr. David Cibula, CSc.

Praha, 2007

Poděkování:

Předem své práce si dovoluji poděkovat všem, kteří se podíleli na její realizaci.

Mému školiteli Doc. MUDr. D. Cibulovi, CSc. za trpělivost a nezištné předávání zkušeností při vedení práce.

Spolupracovníkům MUDr. M. Vrablíkovi, CSc., MUDr. M. Práznému a RNDr. B.Trnkové za pomoc při vytvoření designu studie a zvládnutí laboratorních technik.

Přednostům Gynekologicko-porodnické kliniky I. LF UK a VFN v Praze Prof. MUDr. A. Martanovi, DrSc. a Prof. MUDr. J. Živnému, DrSc. za vytvoření podmínek pro tvůrčí práci.

Obsah:	strana
Úvod	4
Popis projektu	11
Výsledky projektu	
<ul style="list-style-type: none"> • Vliv estrogenní substituční terapie na lipidový profil časně postmenopauzálních pacientek • Vliv estrogenní substituční terapie na subfrakce plazmatických lipidů • Změny biochemických ukazatelů kardiovaskulárního rizika (hsCRP, TFPI, PAI-1, fibrinogen, D-dimery, AT III) po perorální a transdermální estrogenní substituční terapii • Vliv perorální a transdermální estrogenní substituční terapie na mikrocirkulaci 	17 26 28 38
Závěry	40
Conclusion	41
Přílohy	42
Publikační aktivity spojené s tématem disertační práce	
Texty impaktovaných publikací k tématu disertační práce	
Texty některých indexovaných publikací k tématu disertační práce	

Úvod

V průběhu posledního století se život ženy prodloužil průměrně o 30 let. Věk vyhasnutí funkce vaječníků se však podstatně nezměnil. Prodlužuje se tak výrazně doba, kterou žena prožije v estrogenním deficitu. Ten s sebou přináší množství nežádoucích funkčních a následně i organických změn. Je mnohdy obtížné odlišit změny způsobené pouze estrogenním deficitem od změn, na kterých se podílí proces obecného stárnutí organismu.

Péče o ženy v klimakteriu by měla zvýšit počet kvalitních let jejich života (quality-adjusted life-year, QALY) a to v první řadě léčbou akutních obtíží a v druhé řadě - v ideálním případě současně - prevencí dlouhodobých degenerativních metabolických změn.

Teorii možnosti zabránění stárnutí ženy pomocí ovariálního extraktu poprvé vyslovil v roce 1889 Charles Eduard Brown-Sequard. V roce 1923 Edgar Allen a Edward Doisy izolovali estrogény z prasečích ovarií. V roce 1939 izoloval Gordon A. Grant estrogény z moči březích klisen a v roce 1941 byl na trh v Kanadě uveden přípravek z těchto estrogenů Premarin. Výsledky observačních studií ukázaly pozitivní vliv snad na všechny funkční i organické systémy. Hormonální substituce byla nekriticky obdivována jako všelék. Zatímco zjištění vyššího rizika karcinomu endometria při dlouhodobé neoponované estrogenní terapii publikované v roce 1975 bylo vyřešeno přidáním progestinů, selhání rozsáhlých prospektivních studií pro primární a sekundární prevenci ischemické choroby srdeční na přelomu století vedlo k mediální kampani proti hormonální substituci.

Vzhledem k tomu, že zatím není známa dostatečně účinná náhrada hormonální substituce, nevedla tato krize k úplnému opuštění farmakologické skupiny, ale k racionalizaci podávání.

Tato práce se zabývá vlivem hormonální substituční terapie (HRT) na rizikové faktory ischemické choroby srdeční (ICHS) zejména na lipidový profil a některé další faktory kardiovaskulárního rizika (hsCRP, TFPI, PAI-1). Jedná se o jeden z aspektů metabolického vlivu HRT, který je v současnosti středem zájmu klimakterické medicíny.

Kardiovaskulární choroby jsou ve vyspělých státech nejčastější příčinou úmrtí. U mužů incidence stoupá progresivně zhruba od věku 35 let, u žen je vzestup zaznamenán až po 55. roku věku tedy v časové a pravděpodobně i kauzální souvislosti s deplecí estrogenů.

Exogenně podávané estrogény jsou schopny pozitivně ovlivnit aterosogenezi, agregaci destiček i cévní tonus (1).

Studie připisují 30-50% z kardioprotektivního vlivu estrogenů pozitivnímu ovlivnění lipidového spektra. Menopauza je spojena s negativními změnami lipidového profilu, zejména vzestupem LDL (lipoproteiny nízké density) a naopak poklesem HDL (lipoproteiny vysoké density).

Význam hypercholesterolemie (studie MRFIT, Framinghamská studie, studie sedmi zemí) i hypertriglyceridémie (studie PROCAM) jako nezávislých rizikových faktorů ICHS byl jednoznačně prokázán (2). Estrogenní status by mohl ovlivňovat management hypercholesterolemie u žen (3).

Premenopauzální ženy mají tendenci mít periferní (gynoidní) distribuci tělesného tuku, zatímco centrální (androidní) distribuce tuku je nalézána převážně u mužů a postmenopauzálních žen. Estrogenní léčba upřednostňuje typ gynoidní distribuce tuku, který je spojen se sníženým rizikem ICHS (4).

Cévní rezistence. Estrogeny způsobují rychlé uvolnění oxidu dusnatého aktivací syntázy NO prostřednictvím estrogenových receptorů, inhibují průnik kalciových iontů do hladkých svalových buněk přímým působením na membránu nebo L-tytu kalciových kanálů, ovlivňují expresi genů prostacyklin syntázy a NO syntázy. Estrogen indukuje kalcium-dependentní syntázy oxidu dusnatého v buňce a zpomaluje rozvoj aterosklerotických plaků inhibicí proliferace buněk hladkého svalstva (5). V menopauze klesá úměrně délce jejího trvání rychlost toku krve aortou. Při užívání HRT stoupá významně tok krve a snižuje se pulzatilní index krčních artérií (6).

Ostatní faktory. V menopauze roste hladina prokoagulačního faktoru VII (7), fibrinogen a hladina tkáňového aktivátoru plasminogenu, což ukazuje na rostoucí nebezpečí arteriální trombózy v důsledku hyperkoagulačního stavu. Inhibitor aktivovaného plasminogenu (PAI-1) je též u postmenopauzálních žen zvýšen. HRT významně snižuje hladiny PAI-1. Ridker (8) v prospektivní studii 28 263 zdravých postmenopauzálních žen dokázal významnou závislost některých markerů zánětu a rizika kardiovaskulárních chorob. RR ve srovnání nejvyššího a nejnižšího kvartilu pro hs-CRP (high sensitive C-reaktivní protein) byl 4,4, pro sérový amyloid A 3,0, pro sICAM-1 (soluble intracellular adhesion molecule type 1) 2,6, pro interleukin IL-6 2,2. Z dalších sledovaných znaků potvrdil RR pro homocystein 2,0, pro celkový cholesterol 2,4, pro LDL 2,4, pro apolipoprotein B-100 3,4 a pro HDL 0,3.

Klinická aplikace. Výše uvedené pozitivní efekty podávání HRT zejména na lipidový profil uživatelky jsou potvrzovány i četnými populačními studiemi, které prokazují významné snížení rizika ICHS u žen užívajících HRT v primární a dokonce i sekundární prevenci (9, 10, 11). Sullivan (12) a Gruchow (13) prokazují významně lepší koronarografické nálezy u uživatelky estrogenní substituce.

Při podrobnějším rozboru výsledků Nurses' Health Study (14) bylo zjištěno, že HRT sice snižuje riziko ICHS u zdravých žen nezávisle na délce podávání či dávce estrogenu, ale zároveň, že u žen s ICHS krátkodobá HRT zvyšuje riziko a teprve dlouhodobé užívání přináší s sebou snížení rizika.

Nedostatkem observačních epidemiologických studií je jejich zatížení tzv. selekčním bias. Ženy užívající HRT mají obvykle vyšší vzdělání, pocházejí z vyšší sociální třídy a vykazují obecně nižší výskyt rizikových faktorů.

Studie HERS (Heart and estrogen/progestin replacement study) měla ověřit účinek HRT v sekundární prevenci ICHS (15). Šlo o randomizovanou dvojité slepou prospektivní studii. Během 4,1 roku trvání studie se nesnížil výskyt koronárních příhod. V prvním roce trvání studie bylo v léčené skupině pozorováno více koronárních příhod než ve skupině placebové. Méně koronárních příhod se objevilo až ve 4. roce sledování. Navíc se zvýšilo relativní riziko (RR) tromboembolické nemoci (TEN) na 2,89, onemocnění žlučníku $RR = 1,38$ a karcinomu prsu $RR 1,3$. Riziko koronární příhody v prvním roce klesá v 4 měsíčních obdobích z $RR 2,29$ na 1,46 a na 1,18. Nulový až negativní efekt HRT v sekundární prevenci ICHS kontrastuje s příznivým ovlivněním lipidového spektra (snížení LDL-C o 11% a vzestup HDL-C o 10%).

Studie PHASE (Papworth HRT Atherosclerosis) (16) byla prospektivní randomizovaná studie s užitím transdermálního estradiolu a transdermální sekvenční kombinace estradiol + norethisteron. Zařazeno bylo 255 postmenopauzálních (průměrný věk 67 roku) pacientek s angiograficky prokázanou ischemickou chorobou srdeční (více jak 50% stenóza v jedné z koronárních artérií), 131 bylo podáváno HRT, 121 tvořilo kontroly. Průměrná doba sledování byla 30,8 měsíce. Studie ukázalo zvýšení rizika pro ženy zahajující HRT s rozvinutou aterosklerózou i pro transdermální terapii ($RR 1,49$, $CI 0,93-2,36$, $p = 0,11$).

Studie PHOREA (Postmenopausal Hormone Replacement against Atherosclerosis) sledovala vliv podávání 1 mg 17beta-estradiolu oponovaného 0,025 mg gestodenu cyklicky v každém měsíci nebo v každém třetím měsíci na tloušťku intimy femorální artérie. Celkem 321 zdravých postmenopauzálních žen s tloušťkou intimy arteria carotis větší než 1 mm bylo randomizovaně zařazeno do jednoho ze dvou aplikačních schémat na 48 týdnů. HRT sice signifikantně snížilo hladinu LDL-cholesterolu a fibrinogenu, ale nezabránilo v ročním sledování nárůstu tloušťky intimy u žen se subklinickou vaskulární nemocí (17).

Do studie WAVE (Women's Angiographic Vitamin and Estrogen) bylo v 7 centrech zařazeno 423 postmenopauzálních žen s koronární stenózou 15-75% potvrzenou koronarografií. Ženy byly rozděleny do čtyř skupin. Jednu dvojici tvořily ženy léčené 0,625 mg CEE (u žen s dělohou + 2,5 mg MPA) a bez léčby. Druhou ženy léčeny antioxidantními vitamíny - 2krát denně 400 IU vitamin E + 500 mg vitamin C - a bez léčby. Kontrolní angiogram byl proveden za 2,8 roku. Zúžení koronárních artérií se zhoršilo o 0,047 mm/rok ve skupině s HRT a o 0,024 mm/rok v kontrolní skupině. Ve vitamínové skupině rovněž o 0,044 mm/rok v její kontrolní skupině o 0,028 mm/rok.. Ve skupině s HRT zemřelo 14 pacientek (proti 8) s hazard ratio 1,8, ve skupině s vitamíny 16 (proti 6) s hazard ratio (HR) 2,8. Koronární příhody včetně úmrtí prokazují ve skupině s HRT zvýšené riziko (HR 1,9, 26 versus 15) stejně jako ve skupině s vitamíny (HR 1,5, 26 versus 18) (18).

Rovněž studie EPAT (Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis Trial) sledovala účinek 1 mg 17β-estradiolu na tloušťku medie karotid. Zde ovšem podmínkou zařazení do studie byla nepřítomnost ztlustění intimy a normální nebo medikací korigované hodnoty lipidového spektra. Bylo zařazeno 222 žen starších 45 let, měření byla prováděna po 6 měsících 2 roky. Ve skupině žen užívajících estradiol byla progresse subklinické aterosklerózy o 0,0017 mm/rok nižší ve srovnání s placebem. Tento rozdíl nebyl patrný ve skupině žen užívajících hypolipidemika.

Tato studie na rozdíl od výše uvedených sledovala vliv estradiolu na ověřeně zdravou cévní stěnu, tedy ve skutečné primární prevenci (19)

Studie Women's Health Initiative (WHI) (20) byla prezentována jako jedna z dlouho očekávaných studií o vlivu HRT na primární prevenci ICHS. Do studie byly v letech 1993 - 1998 zařazovány ženy ve věku 50-79 let minimálně 6 měsíců po menopauze. Po minimálně tříměsíčním přerušení léčby bylo zařazeno i 26% žen, které již HRT užívaly. Studie probíhala ve dvou základních liniích - čistě estrogení léčba pro ženy po hysterektomii a kombinovaná estrogen-gestagení terapie pro ženy s dělohou.

Větev s estrogen-gestagení substitucí ve složení 0,625 mg CEE a 2,5 mg MPA byla po 5,2 roku trvání studie předčasně ukončena pro převahu nepříznivých účinků léčby nad placebem. V souboru 8 506 uživatelů a 8 102 kontrol bylo zjištěno zvýšení rizika karcinomu prsu, ICHS, cévní mozkové příhody a tromboembolie. Preventivní vliv na zlomeniny krčku kosti stehenní, karcinom endometria a kolorektální karcinom nepostačil v této studii k vyvážení negativ. Jiné faktory spojené s estrogením deficitem (urogenitální trofika, kvalita života pacientky, subjektivní spokojenost) nebyly sledovány.

Studie je velmi dobře randomizována a všechny větve jsou naprosto srovnatelné. Avšak prezentace souboru, který snad představuje běžnou severoamerickou populaci, jako souboru zdravých žen je překvapivá. Pro zahájení primární prevence ICHS se průměrný věk 63,2 jeví poměrně vysoký a vysoká procentuální přítomnost faktorů ovlivňujících ICHS (34% body mass index nad 30, 50 % abusus nikotinu, 4,4% diabetiček, 6,9% uživatelů hypolipidemik, 20% uživatelů aspirinu) i samotné anamnézy ICHS (4,4%) je zarážející.

Také estrogení větev studie WHI byla uzavřena předčasně po 6,8 (5,7-10,7) roku s odůvodněním, že další pokračování již nepřináší nové údaje, není sice překročeno žádné stanovené riziko, ale riziko ICHS se nesnižuje.

V estrogenní větvi WHI bylo v letech 1993 – 1998 randomizováno 10 739 zdravých žen. Z nich užívalo 0,625 mg CEE 5310 žen a placebo 5429 žen. Zařazeno bylo 48% léčených hypertoniček, 7,7 % diabetiček, 7,4 % uživatelék statinů, 19,4% žen na aspirinu i 4,1% žen s anamnézou ICHS. Opět zazní široké věkové rozmezí od 50 do 79 let a nulové údaje o indikaci k zahájení terapie (21).

Pouze další výzkum v prospektivních intervenčních studiích může dát odpověď na příčiny rozdílů ve výsledcích jednotlivých studií o vlivu HRT na kardiovaskulární aparát.

Popis projektu

Výsledky provedených epidemiologických a prospektivních studií zaměřených na hormonální substituční terapii u postmenopauzálních žen jsou kontroverzní. Původně jednoznačně pozitivní hodnocení HRT ve vztahu k metabolismu lipidů a lipoproteinů muselo být ve světle posledních výsledků velkých randomizovaných prospektivních studií přehodnoceno. Je zřejmé, že zejména po zahájení terapie je v sekundární prevenci ICHS riziko kardiovaskulárních komplikací vyšší u pacientek s HRT než bez léčby, přestože dochází k pozitivnímu ovlivnění lipidového spektra.

Cílem projektu bylo přispět k objasnění této diskrepance detailním rozbořem změn lipidového a lipoproteinového spektra, ke kterým po zahájení terapie dochází. Současně byly sledovány změny dalších metabolických, hematologických a biochemických parametrů. Byl porovnán vliv různé aplikační cesty HRT (perorální a transdermální) na sledované veličiny.

Výsledkem měla být verifikace vlivu HRT na tyto metabolické aspekty, porovnání dvou základních aplikačních přístupů HRT (transdermálního a perorálního) a případné označení možných příčin diskrepancí mezi výsledky starších populačních a novějších randomizovaných prospektivních studií.

Pracovní hypotéza. Přestože hormonální substituční terapie u postmenopauzálních žen pozitivně ovlivňuje řadu rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění, bylo v prospektivních studiích zjištěno zvýšení rizika po zahájení HRT u pacientek v sekundární prevenci ICHS. Je tedy pravděpodobné, že podávání HRT mění další faktory, které se uplatňují v patogenezi kardiovaskulárních chorob. Dále lze předpokládat, že vliv perorální a transdermální HRT na sledované proměnné bude rozdílný.

Očekávané výsledky. Dosud publikované práce prokázaly, že menopauza je spojena s řadou změn metabolických pochodů. Tyto změny se týkají zejména metabolismu lipidů a lipoproteinů (vzestup TC, LDL, snížení HDL) a glycidů (zvýšení inzulínemie a inzulínové rezistence), regulace cévního tonu a vasomotoriky, dochází k přestavbě systémů hormonálních regulací. Bylo zjištěno, že některé tyto vlivy lze do určité míry zvrátit podáváním HRT. V závislosti na typu podávané HRT je patrné různě významné pozitivní ovlivnění hladin celkového, LDL i HDL cholesterolu, triglyceridy jsou perorálně podávanou HRT ovlivňovány negativně, u transdermálních HRT systémů není tento efekt natolik výrazný. Ovlivnění hemokoagulačních parametrů včetně cytoadhezivních molekul bylo v některých provedených studiích hodnoceno rovněž pozitivně. Studium vlivu HRT na cévní reaktivitu měřenou pomocí unikátní metody využívající laser dopplerovské měření reakce kožních cév na termické a presorické podněty nebylo v této souvislosti dosud prováděno. Rovněž údaje, týkající se přesného popisu změn lipidových podtříd a jednotlivých lipoproteinů nejsou rozsáhlé.

Metodika. Vzhledem k omezení rizika chyby při randomizaci byl zvolen cross-over design studie. Pacientky byly zařazovány na základě vstupních kritérií: menopauza (definovaná jako FSH nad 40 IU/l); absence vylučovacích kritérií pro podávání HRT; podepsání informovaného souhlasu; časný start terapie tedy do 3 měsíců od menopauzy. Do studie nebyly zařazovány pacientky s některým z následujících vylučovacích kritérií: kuřáctví; arteriální hypertenze; DM; ICHS; malignity i v anamnéze; BMI > 30 kg/km²; anamnéza TEN; nekorigovaná porucha funkce štítné žlázy; těžší porucha funkce jater a ledvin; sekundární hyperlipoproteinemie; užívání léků ovlivňujících lipidový profil a fytoestrogenů.

Vybrané pacientky byly 6 týdnů od navození iatrogenní menopauzy náhodně rozděleny do dvou skupin z nichž jedna skupina užívala perorální HRT a druhá skupina transdermální HRT. Po 12 týdnech následovala týdenní wash-out perioda a následně 12 týdnů užívání druhé modality.

Při zařazení do studie byly všechny pacientky poučena o dietě a správném pohybovém režimu. Při vstupním vyšetření a při kontrolních vyšetřeních na konci každé intervenční periody studie byly vyšetřovány následující parametry. Komplexní klinické vyšetření včetně krevního tlaku, tepové frekvence, určení BMI a odběru podrobné anamnézy. Byla vyšetřena základní biochemie séra (mineralogram, renální funkce, jaterní soubor, CK, glykémie, TSH), proveden kompletní rozbor lipidogramu (TC, TG, HDL, LDL, apoB, apoA, Lp(a)) včetně preparativní ultracentrifugace ke kvantitativnímu stanovení lipidových podtříd a určení velikosti LDL. Vyšetření zahrnovalo stanovení FSH, LH a estradiolu. Stanovení C reaktivního proteinu bylo nahrazeno přesnějším stanovením hsCRP. Hematologické vyšetření zahrnovalo vyšetření krevního obrazu, hemokoagulační parametry (APTT, INR, fibrinogen, D-dimery, AT III). Ze speciálních vyšetření byla provedena analýza faktorů kardiovaskulárního rizika – PAI-1 a TFPI. Cévní reaktivita byla posuzována neinvazivně pomocí laser dopplerovského určení citlivosti kožních arteriol na termické a mechanické podněty.

Studie byla navržena jako explorativní, nebyly určeny primární ani sekundární endpointy. Výsledky byly statisticky zpracovány.

Význam projektu. S prodloužením průměrné délky života obyvatel se zvyšuje procento populace ve vyšší věkové kategorii. Tato skupina váže na sebe nemalé náklady zdravotnického systému. Pouze primární prevencí nejčastějších chorob, jako jsou choroby kardiovaskulárního systému, lze dosáhnout nejen prodloužení, ale i zkvalitnění života. S tím pak je spojeno snížení nákladů na léčebné a sociální potřeby populace.

Projekt by měl pomoci najít optimální management žen v postmenopauze z pohledu dyslipidemií a kardiovaskulárních rizik. Určité procento postmenopauzálních žen je dle současných znalostí indikováno k užívání HRT. Část žen pokračuje v již zahájené terapii indikované pro akutní příznaky klimakterického syndromu, část je indikována k substituci v rámci prevence pozdních projevů estrogenního deficitu zejména osteoporózy.

Cílem projektu není primárně rozšíření preskripce HRT, ale objektivní zhodnocení jejího vlivu na rizikové faktory kardiovaskulárních chorob. Zárukou objektivity v případě tohoto projektu je na firemních zájmech nezávislé financování, které umožnil grant IGA MZ ČR NB/7588-3 v letech 2003 - 2005.

Objektivizace reálných možností HRT a případná volba vhodné aplikační cesty u cílové skupiny pacientek povede dle našeho názoru k racionalizaci preskripce. Předpokládaným přínosem je i realizace komplexní péče o pacientku odpovídající současnému světovému trendu center klimakterické medicíny, kde základem terapie nebude pouhá preskripce léků, ale zároveň doporučení režimových opatření při přísné individualizaci přístupu ke každé klientce.

Za nedílnou součást projektu považují širokou popularizaci informací získaných při řešení projektu formou přehledových článků v odborném tisku.

Základní literatura:

1. Collins R., Beale C.M.: The cardioprotective role of HRT – a clinical update, Partheon Publishing, London, 1996, p. 60
2. Assmann G., Schulte H., von Eckardstein A.: Hypertriglyceridemia and elevated Lp(a) are risk factors for major coronary events, *Am. J. Cardiol.* 1996, 77, p. 1179-84
3. Málková J.: Aktuální pohled na postavení ERT/HRT v prevenci kardiovaskulárních chorob, II. celostátní sjezd SSG ČR, 26.-28.5. 2000, Praha
4. Ley G.J., Lees B., Stevenson J.C.: Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution, *Am J. Clin. Nutr.* 1992, 55, p. 950-4
5. Magnes R.R., Rosenfeld C.R.: Local end systemic estradiol, effects on uterine and systemic vasodilatation , *Am. J. Physiol.* 1989, 256, p. 536-42
6. Pines A.: Menopause-induced changes in Doppler-derived parameters of aortic flow in healthy women, *Am. J. Cardiol.* 1992, 69, p. 1104-6
7. Scarabin P.: Factor VII activation and menopausal status, *Thromb Res* 1990, 57, p.227-34
8. Ridker P.M. et al. : C-reaktive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women, *N. Engl. J. Med.* 2000, 342, p. 836-43
9. Colditz G.A. et al.: Menopause and the risk of coronary heart disease in women, *N. Engl. J. Med.* 1987, 316, p. 1105-10
10. Busch T.L. et al.: Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women, *Circulation* 1987, 75, p. 1102-9
11. Sullivan J.M. et al.: Estrogen replacement and coronary artery disease, *Arch Intern Med* 1990, 150, p. 2557-62
12. Sullivan J.M. et al.: Postmenopausal estrogen use and coronary atherosclerosis, *Ann Intern. Med.* 1988, 108, p. 358-63
13. Gruchow H.W., Anderson A.J., Barboriah J.J., Sulocinski K.A.: Postmenopausal use of estrogen and occlusion of coronary arteries, *Amer. Heart. J.* 1988, 115, p. 954-63
14. Grodstein F.: HRT and cardiovascular risk: the Nurses Health Study, FEMS, Prague 2000
15. Hulley S. et al.: Randomised trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women, *JAMA* 1998, 280, p. 605-13
16. Clarke S., Kelleher J., Lloyd-Jones H. et al.: A study of HRT in postmenopausal women with ischaemic heart disease. *BJOG* 2002, 109, p. 1056- 62

17. Angerer P., Stork S., Kothny W. et al.: Effect of postmenopausal hormone replacement on atherosclerosis in femoral arteries. *Maturitas* 2002, 41, p. 51-60
18. Waters P., Alderman EL., Hsia J. et al.: Effects of HRT and antioxidant vitamin supplements on coronary atherosclerosis in postmenopausal women. *JAMA* 2002, 288, p. 3433-40
19. Hodis HN., Mack WJ.: Atherosclerosis Imaging methods: Assessing cardiovascular disease and evaluating the role of estrogen in prevention of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2002, 89, 19E-27E
20. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators, *JAMA* 2002, 288, p. 321-33
21. WHI Steering Committee: Effect of CEE in postmenopausal women. *JAMA* 2004, 291, p.1701 – 12

Výsledky projektu

Vliv estrogenní substituční terapie na lipidový profil časně postmenopauzálních pacientek

V naší studii jsme sledovali změny hladin jednotlivých frakcí lipidového profilu v závislosti na aplikační formě čistě estrogenní substituční terapie (ERT) ve skupině hysterektomovaných žen s časným startem substituční terapie.

Metodika: Prospektivní studie probíhala od září 2003 do března 2005. Zařazeno bylo 45 žen s příznaky akutního klimakterického syndromu, 41 žen studii řádně dokončilo a jejich data byla analyzována. Ženy byly 6 až 12 týdnů po operačním odstranění ovarií a dělohy. Před operací neměly obtíže svědčící pro estrogenní deficit. Průměrný věk souboru byl 49 ± 6 let (32 – 57 let). Byly dodrženy známé kontraindikace HRT. V cross-over designu byly randomizovány pro perorální nebo transdermální ERT podávanou vždy 12 týdnů s výměnou aplikační formy po týdenní wash-out periodě. Podávány byly 2 mg 17beta-estradiolu (E2) denně (Estrofem tbl, Novo Nordisk) nebo jejich ekvivalent v transdermální terapeutickém systému uvolňujícím 50 μ g E2 denně s týdenní aplikací (Climara emp, Schering).

Vyšetření byla prováděna na počátku studie, po 12 a 25 týdnech, tedy v posledním týdnu léčebné intervence. Odběry žilní krve byly prováděny po minimálně 10 hodinovém lačnění mezi 8 a 9 hodinou ranní pomocí Vacutainer systému do zkumavek obsahujících EDTA.

Koncentrace TC, TG a HDL-cholesterolu byly stanoveny fotometrickou enzymovou metodou na automatickém analyzátoru. Hodnota LDL-cholesterolu byla získána dopočtem dle Friedewalda ($LDL = TC - HDL - TG/2,2$). Non HDL-cholesterol byl stanoven dopočtem: $non\ HDL = TC - HDL$. Hodnota aterogenního indexu byla stanovena dle vzorce $AI = (TC - HDL) / HDL$

Hodnoty apolipoproteinů A1 a apolipoproteinů B byly stanoveny nefelometricky. Statistické zpracování výsledků bylo provedeno párovým t-testem.

Výsledky: Celkový cholesterol se proti bazálním hodnotám ($5,54 \pm 1,07$ mmol/l) statisticky významně neměnil ($p = 0,109$ pro perorální léčbu a $p = 0,928$ pro léčbu transdermální). Triglyceridy signifikantně ($p = 0,004$) vzrostly při perorální léčbě z $1,39 \pm 0,9$ mmol/l na $1,61 \pm 0,8$ mmol/l. To spolu s nesignifikantním ($p = 0,187$) trendem k poklesu u transdermální léčby vedlo k označení rozdílu v jejich působení za významný ($p = 0,0001$). Příznivý vzestup HDL-cholesterolu z $1,85 \pm 0,39$ mmol/l na $2,09 \pm 0,42$ mmol/l ($p = 0,0001$) po perorální léčbě je signifikantně ($p = 0,009$) vyšší než po transdermální terapii s vzestupem na $1,96 \pm 0,42$ mmol/l ($p = 0,029$). Tento trend byl patrný i v hodnotách hlavního apolipoproteinu HDL – apo AI, který se významně ($p = 0,0001$) zvýšil po perorální ERT a nikoli po transdermální terapii. Také změny LDL-cholesterolu byly příznivější ($p = 0,0001$) pro perorální léčbu, kdy z iniciální hladiny $3,06 \pm 0,97$ mmol/l významně ($p = 0,0001$) poklesl na $2,52 \pm 0,71$ mmol/l, zatímco po transdermální ERT byl pokles na $3,0 \pm 1,0$ mmol/l nevýznamný. Tento trend kopíroval apolipoprotein B významným ($p = 0,012$) poklesem po perorální léčbě z $1,1 \pm 0,4$ g/l na $1,0 \pm 0,3$ g/l. Rozdíl oproti vlivu transdermální léčby s nesignifikantním ($p = 0,29$) poklesem na $1,0 \pm 0,3$ g/l není však významný ($p = 0,076$). Také v koncentraci non HDL-cholesterolu, který zahrnuje všechny aterogenní částice plasmy tedy VLDL, IDL, LDL a jejich remnanty, došlo k významně ($p = 0,002$) vyššímu poklesu po perorální oproti transdermální terapii. Při náhradě lipidového profilu vypočteným aterogenním indexem zjistíme pokles z bazální hodnoty $2,1 \pm 0,9$ na $1,6 \pm 0,6$ po perorální léčbě ($p = 0,0001$) signifikantně ($p = 0,0001$) významnější než pokles na $1,9 \pm 0,8$ ($p = 0,011$) po léčbě transdermální. S výjimkou triglyceridů měly všechny ostatní hodnoty charakterizující metabolismus lipidů příznivější vývoj po perorální ERT.

Závěr: V letech 1974 až 200 bylo publikováno 248 studií sledujících vliv 42 různých režimů HRT, raloxifenu či tibolonu na lipidový profil. Všechny ERT režimy zvyšovaly HDL-cholesterol, snižovaly LDL-cholesterol a TC. Perorální estrogeny zvyšovaly TG. Transdermální 17-beta estradiol snižoval TG.

Perorální ERT má pozitivní vliv na většinu složek lipidového profilu (HDL- cholesterol, LDL-cholesterol, non HDL-cholesterol, apo AI, apo B) s výjimkou TG. Transdermální léčba je ve více ukazatelích neutrální (TG, LDL-cholesterol, non HDL-cholesterol, apo AI, apo B).

Výsledky jsou v souladu s literárními údaji. Tyto trendy jsou patrné bez ohledu na časnost zahájení terapie. Nedávají odpověď na otázku rozdílů mezi výsledky observačních a intervenčních studií vlivu na ischemickou chorobu srdeční. V rámci současného trendu individualizace HRT se ukazuje znalost hodnot lipidogramu pacientky užitečná pro zohlednění při výběru terapie.

Tabulka: Hodnoty lipidového profilu (1 – bazální hodnoty, 2 - po perorální ERT, 3 - po transdermální ERT, sd – směrodatná odchylka, p – hladina statistické významnosti pro párový t-test), p (1) – srovnání proti bazální hodnotě, p (2x3) – srovnání perorální a transdermální intervence, statisticky významné rozdíly vyznačeny tučně.

část A – hodnoty celkového cholesterolu (TC, mmol/l), triglyceridů (TG, mmol/l) HDL-cholesterolu (mmol/l)

	TC 1	TC 2	TC 3	TG 1	TG 2	TG 3	HDL 1	HDL 2	HDL 3
Průměr	5,54	5,34	5,53	1,39	1,61	1,26	1,85	2,09	1,96
d.	1,07	0,91	1,17	0,79	0,80	0,68	0,39	0,42	0,42
Median	5,41	5,20	5,20	1,22	1,46	1,01	1,85	2,02	1,88
Min	3,82	3,55	3,00	0,52	0,55	0,51	1,16	1,54	1,31
Max	8,36	7,92	9,49	4,69	4,03	3,19	2,85	3,12	3,14
P (1)		0,109	0,928		0,003	0,238		0,0001	0,047
p (2x3)			0,093			0,0001			0,006

část B – hodnoty LDL cholesterolu (mmol/l), non HDL- cholesterolu (mmol/l) a aterogenního indexu

	LDL 1	LDL 2	LDL 3	non HDL 1	non HDL 2	non HDL 3	AI 1	AI 2	AI 3
Průměr	3,06	2,52	3,00	3,69	3,24	3,57	2,1	1,6	1,9
s.d.	0,97	0,71	1,00	1,15	0,94	1,17	0,9	0,6	0,8
Median	2,98	2,45	2,89	3,48	3,24	3,25	1,9	1,5	1,8
Min	1,16	1,58	1,34	1,54	1,83	1,60	0,6	0,8	0,7
Max	5,39	4,41	5,78	6,49	6,22	6,93	4,4	3,7	4,2
P (1)		0,0001	0,516		0,0001	0,331		0,0001	0,011
p (2x3)			0,0001			0,002			0,0001

část C – hodnoty apolipoproteinů AI (g/l) a apolipoproteinů B (g/l)

	apo AI 1	apo AI 2	apo AI 3	apo B 1	apo B 2	apo B 3
Průměr	1,5	1,6	1,5	1,1	1,0	1,0
s.d.	0,2	0,2	0,2	0,4	0,3	0,4
Median	1,5	1,7	1,6	1,1	1,0	1,0
Min	1,2	1,2	1,2	0,5	0,4	0,4
Max	1,9	2,0	1,9	1,8	2,0	2,0
P (1)		0,0001	0,077		0,012	0,290
p (2x3)			0,0001			0,076

Graf 1: Statistické hodnocení změn hladin triglyceridů

Analysis Summary

Dependent variable: $-(TG^{-0.25})$

Factors: Stage
subj

Selection variable: $\text{abs}((R-\text{avg}(R))/\text{sd}(R)) < 3$

Number of complete cases: 122

Analysis of Variance for $-(TG^{-0.25})$ - Type III Sums of Squares

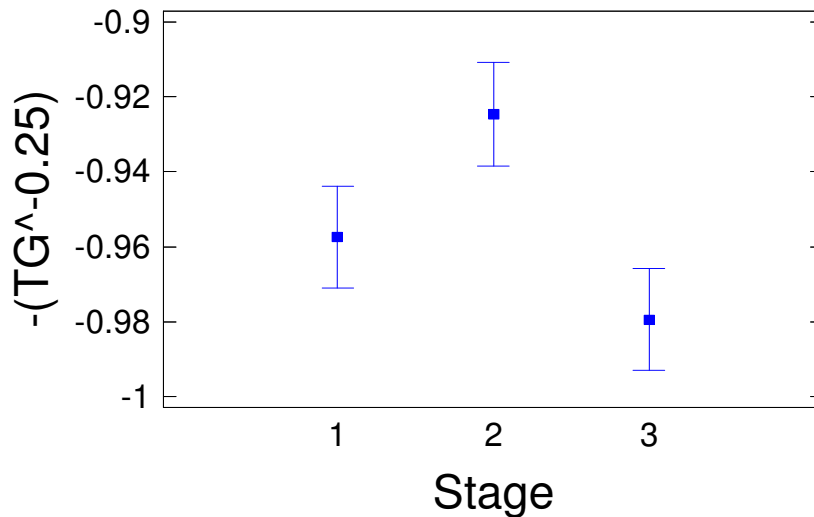
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Stage	0.0609997	2	0.0304999	12.05	0.0000
B:subj	1.33065	40	0.0332663	13.14	0.0000
RESIDUAL	0.199945	79	0.00253095		
TOTAL (CORRECTED)	1.60506	121			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for $-(TG^{-0.25})$
with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	122	-0.953844			
Stage					
1	41	-0.957428	0.00785688	-0.973067	-0.94179
2	40	-0.924669	0.00800284	-0.940598	-0.90874
3	41	-0.979435	0.00785688	-0.995074	-0.963796

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Graf 2: Statistické hodnocení změn hladin HDL-cholesterolu

Analysis Summary

Dependent variable: $-(HDL^{-0.5})$

Factors:

Stage

subj

Selection variable: $\text{abs}((R-\text{avg}(R))/\text{sd}(R)) < 3$

Number of complete cases: 123

Analysis of Variance for $-(HDL^{-0.5})$ - Type III Sums of Squares

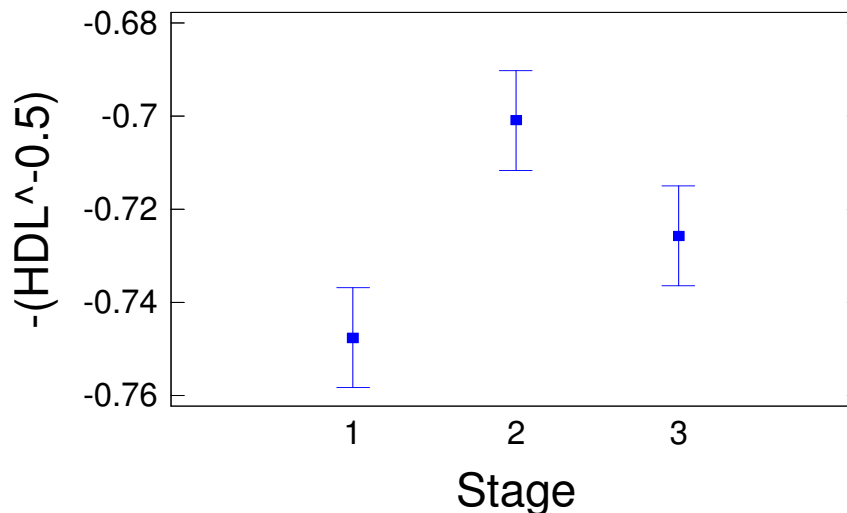
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Stage	0.0448185	2	0.0224092	14.24	0.0000
B:subj	0.506128	40	0.0126532	8.04	0.0000
RESIDUAL	0.125851	80	0.00157313		
TOTAL (CORRECTED)	0.676797	122			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for $-(HDL^{-0.5})$
with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	123	-0.724736			
Stage					
1	41	-0.747615	0.00619428	-0.759943	-0.735288
2	41	-0.700888	0.00619428	-0.713215	-0.688561
3	41	-0.725705	0.00619428	-0.738032	-0.713378

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Graf 3: Statistické hodnocení změn hladin LDL-cholesterolu

Analysis Summary

Dependent variable: log(LDL)

Factors:

Stage

subj

Selection variable: $\text{abs}((R-\text{avg}(R))/\text{sd}(R)) < 3$

Number of complete cases: 120

Analysis of Variance for log(LDL) - Type III Sums of Squares

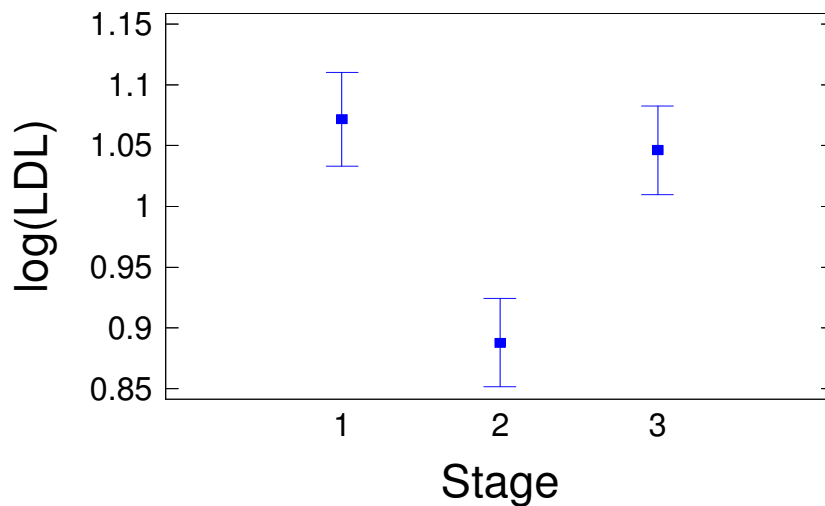
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Stage	0.791966	2	0.395983	21.71	0.0000
B:subj	8.88012	40	0.222003	12.17	0.0000
RESIDUAL	1.40446	77	0.0182398		
TOTAL (CORRECTED)	11.1248	119			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for log(LDL)
with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	120	1.00197			
Stage					
1	38	1.07171	0.0223059	1.0273	1.11613
2	41	0.88787	0.021092	0.84587	0.929869
3	41	1.04632	0.021092	1.00432	1.08832

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Graf 4: Statistické zpracování změn hladin apoA

Analysis Summary

Dependent variable: apoA

Factors:

Stage

subj

Selection variable: $\text{abs}((R-\text{avg}(R))/\text{sd}(R)) < 3$

Number of complete cases: 122

Analysis of Variance for apoA - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value

MAIN EFFECTS					
A:Stage	0.547648	2	0.273824	17.30	0.0000
B:subj	3.11704	40	0.077926	4.92	0.0000
RESIDUAL	1.25055	79	0.0158298		

TOTAL (CORRECTED)	4.90226	121			

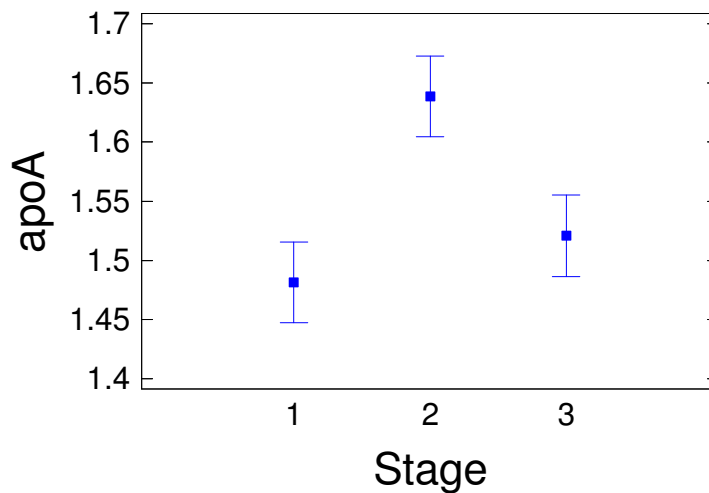
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for apoA
with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit

GRAND MEAN	122	1.54692			
Stage					
1	41	1.48122	0.0196492	1.44211	1.52033
2	41	1.63854	0.0196492	1.59943	1.67765
3	40	1.521	0.0200143	1.48117	1.56084

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Vliv estrogenní substituční terapie na subfrakce plazmatických lipidů

Vliv estrogenů na hladiny běžně stanovovaných lipidových tříd krevní plazmy je známý. Méně byla zkoumána změna složení jednotlivých lipoproteinových subfrakcí po zahájení estrogenní substituční léčby (ERT). Přitom je zřejmé, že právě složení jednotlivých lipoproteinových částic, označované jako kvalita lipoproteinů, je pravděpodobně zásadní pro určení aterogenního potenciálu, protože určuje další vlastnosti lipoproteinové částice (velikost, náchylnost k oxidativní modifikaci, afinitu k lipolytickým enzymům). Relativně nové je i poznání významu běžně nestanovovaných remnantních částic (RLP) vznikajících biodegradací chylomikronů a VLDL částic, jejichž zvýšená koncentrace je spojena s významným nárůstem kardiovaskulárního rizika.

Metodika: V naší studii byly vyšetřeny změny lipoproteinových subfrakcí u probandek před zahájením ERT a na konci každé léčebné periody (transdermální a perorální). K vyšetření byla použita plazma čerstvě izolovaná z venózní krve. Metodou preparativní ultracentrifugace byla stanovena koncentrace cholesterolu a triglyceridů v HDL, IDL, LDL a VLDL částicích. Koncentrace RLP cholesterolu byla stanovena metodou dle Nakajimy založenou na imunoseparační technice v Regionální laboratoři WHO v IKEM Praha. Rozdíly byly statisticky hodnoceny párovým t-testem. Vzhledem k mnohonásobnému testování byly za statisticky významné považovány hodnoty $p < 0.005$.

Výsledky: Celková koncentrace triglyceridů v plazmě zjištěná ultracentrifugačně byla statisticky významně nižší při transdermální aplikaci než při perorální ($1,33 \pm 0,72$ mmol/l vs. $1,48 \pm 0,67$ mmol/l, $p < 0,0001$). Rozdíl mezi hodnotou bez léčby a při léčbě nebyl ani pro jednu z aplikačních cest statisticky významný. Koncentrace cholesterolu v HDL částicích byla významně nižší při transdermální než při perorální léčbě

($1,63 \pm 0,45$ mmol/l vs. $1,94 \pm 0,49$, $p < 0,0001$). Opět nebyly zjištěny rozdíly oproti výchozí hodnotě. Koncentrace triglyceridů byly významně nižší ve třídách HDL i LDL částic při transdermální léčbě ve srovnání s perorální ($0,19 \pm 0,05$ mmol/l vs. $0,27 \pm 0,07$ mmol/l, $p < 0,0001$; $0,22 \pm 0,07$ mmol/l vs. $0,26 \pm 0,1$ mmol/l, $p < 0,0001$). V HDL i LDL subfrakci nebyla hladina triglyceridů ve srovnání s výchozí hodnotou ovlivněna transdermální terapií, ale byl zjištěn významný vzestup triglyceridů v obou subfrakcích při perorální léčbě ($0,19 \pm 0,06$ mmol/l vs. $0,27 \pm 0,07$, $p < 0,0001$; $0,23 \pm 0,08$ mmol/l vs. $0,26 \pm 0,10$ mmol/l, $p < 0,0001$).

Ve srovnání s výchozí hodnotou koncentrace cholesterolu v RLP zůstala při transdermální terapii beze změny a významně poklesla při perorální terapii ($10,11 \pm 6,82$ mg/dl vs. $7,77 \pm 4,07$ mg/dl, $p = 0,0034$). Rozdíl mezi terapiemi nebyl statisticky významný.

Závěr: Perorální ERT vedla ve sledovaném souboru k statisticky významně většímu vzestupu koncentrace triglyceridů v lipoproteinových částicích HDL i LDL. Obohacení částic triglyceridy způsobuje změnu afinity k lipolytickým enzymům. Na triglyceridy bohaté HDL částice jsou lepším substrátem pro jaterní lipázu (HL) jejímž působením jsou velké částice HDL2 přeměňovány na menší HDL3, které mají výrazně nižší aktivitu v reverzním transportu cholesterolu. Zvýšení zastoupení triglyceridů v LDL částicích vede v konečném důsledku k ovlivnění jejich afinity k receptorům, podílí se na determinaci velikosti LDL partikulí a způsobuje tak zvýšení aterogenicity LDL částic. Pro obě aplikační cesty ERT byl prokázán příznivý vliv na koncentrace cholesterolu v RLP, i když pouze u perorální léčby byl efekt statisticky významný. Pokles hladin RLP je jednoznačně příznivý a snižuje aterogenicitu plazmy.

Provedená pozorování potvrzují, že ERT je spojena s významnými změnami složení jednotlivých lipoproteinových tříd, které determinují vlastnosti a aterogenní potenciál lipoproteinových částic krevní plazmy. Výsledky podporují přednostní využití transdermální aplikace ERT u pacientek s dyslipidemií a zvýšeným kardiovaskulárním rizikem.

Změny biochemických ukazatelů kardiovaskulárního rizika (hsCRP, TFPI, PAI-1, fibrinogen, D-dimery, AT III) po perorální a transdermální estrogenní substituční terapii

Riziko komplikací aterosklerózy je úměrné hladinám prozánětlivých cytokinů zejména interleukinů IL-1 a IL-6 a reaktantů akutní fáze, jako je C-reaktivní protein. Při užití vysoce citlivých souprav bylo zjištěno, že lehké zvýšení CRP běžnými soupravami nedetekovatelné je citlivým nezávislým markerem pro riziko ICHS, nestability aterosklerotického plátu, aterosklerózy obecně i endoteliální dysfunkce bez známek aterosklerózy. V roce 2003 stanovila American Heart Association za normální hranici hodnotu ≤ 3 mg/l.

Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) je hlavním inhibítorem komplexu tkáňový faktor – aktivovaný faktor VII koagulační kaskády a tím výrazným modulátorem trombogeneze. Podání rekombinantního TFPI na zvířecích modelech bylo prevencí trombózy a retrombózy, snižovalo mortalitu na septický šok vyvolaný *E. coli*, snižovalo subendoteliální depozici fibrinu a chránilo proti rozvoji diseminované intravaskulární koagulopatie. TFPI je produkováno zejména endotelem. Vykazuje vysokou vazbu na LDL (lipoproteiny nízké hustoty). Průměrná plasmatická koncentrace u normální populace je 60 ± 13 mg/l. Nízké hladiny volného TFPI jsou považovány za rizikové pro hlubokou žilní trombózu s RR 1,7 pro hranici 10. percentilu a 2,1 pro 5. percentil.

Plasminogen activator inhibitor – 1 (PAI-1) je produkován mnoha buňkami včetně endotelu a hepatocytů. Je fyziologickým inhibítorem plasminogenem zprostředkované fibrinolýzy. Plasminogen je na plasmin aktivován aktivátory plasminogenu – tkáňovým (tPA) a urokinázovým (uPA). Úkolem PAI-1 je rychlá inhibice tPA. Jeho nárůst je známkou

zvýšeného rizika tromboembolické nemoci a rozvoje aterosklerotických změn. Normální hodnoty jsou 11 - 69 µg/l respektive 0 – 13 IU/ ml.

Metodika:

Ke stanovení hs-CRP byla použita Souprava pro ultrasenzitivní stanovení C-reaktivního proteinu, Sevapharma a.s., kalibrovaná v rozsahu 0,5 - 10 mg/l. Principem stanovení je imunoturbidimetrie při vlnové délce 620 nm (dle přístroje).

Stanovení PAI-1 bylo provedeno soupravou ChromolyzeTM PAI-1. Principem je bio immunoassay – navázaný aktivní tkáňový aktivátor plasminogenu reaguje s aktivním PAI-1 z vzorku plasmy. Aktivní tPA je v navázaném stavu v jamkách na destičce lyofilizováno. Po rozpuštění jsou přidány vzorky plazmy obsahující PAI-1, aktivní PAI-1 reaguje s navázaným tPA. Současně je přidána protilátka s konjugovanou peroxidázou. Po inkubaci jsou zbytky nenavázaných bílkovin vzorku a konjugované protilátky odstraněny promytím. Množství navázaného PAI-1 je určeno pomocí příslušného substrátu. Intenzita vyvinutého zbarvení je přímo úměrná koncentraci PA-1 ve vzorku. Absorbance je měřena ELISA readerem při 492 nm. 1 jednotka PAI-1 aktivity je definována jako množství PAI-1, které inhibuje 1 mezinárodní jednotku lidského jednoduchého řetězce tPA.

Ke stanovení TFPI byla použita souprava IMUBIND^R Total TFPI ELISA test. Jedná se o enzymovou sendvičovou metodu s dolním limitem detekce 0,18 ng/ml.

Ke **stanovení TFPI** byla použita souprava IMUBIND^R Total TFPI ELISA test. Jedná se o enzymovou sendvičovou imunometodu, jako vazebné protilátky se využívá králičí protilátky proti lidskému TFPI. Specificita vazebné protilátky proti nativnímu, komplexnímu i zkrácenému TFPI byla ověřena Western blotem, na kterém se vybarvila jedna linie 34 kD, která odpovídala pohyblivostí intaktnímu nativnímu TFPI a jedna linie 21 kD odpovídající zkrácené formě TFPI. Nařaděné vzorky plazmy byly inkubovány

v jamkách ELISA destiček, potažených vazebnou protilátkou. TFPI je detekován za použití biontylované monoklonální protilátky specifické pro Kunitzovu doménu 1 na TFPI. Následná vazba streptavidinu s konjugovanou koňskou peroxidázou vytvoří komplex pro detekci. Po přidání substrátu TMB vzniká modré zabarvení, jehož intenzita se měří při 450 nm. Koncentrace TFPI jsou určeny z kalibrační křivky nativního TFPI.

Charakteristika testu – specifická - testem IMUBIND lze stanovit nativní TFPI navázaný na HDL, LDL, VLDL i zkrácenou formu lidského TFPI. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita nebo interference. Citlivost - dolní limit detekce byla určena z 15 měření „nulového standardu“ a spočítaná hodnota je 0,18 ng/mL (0,18 mg/l).

Jedná se o dvoudenní pracovní postup. V prvním dnu se vzorky plazmy naředí pufrům 1 : 40 a po 100 µl se v duplikátech napipetuje do jamek na desce. Napipetuje se i po 100 µl standardů TFPI a referenční plazmy s TFPI, deska se přikryje víčkem a nechá se při 4⁰C inkubovat přes noc. Druhý den se jamky 4x promyjí promývacím pufrům. Pak se do každé jamky přidá 100 µl detekční protilátky a zakryté se inkubuje při pokojové teplotě 1 hodinu. Opět se 4x promyje. Naředí se enzymový konjugát a přidá se 100 µl do každé jamky, zakryje se a opět inkubuje 1 hodinu při pokojové teplotě. 4x se promyje promývacím pufrům a do každé jamky se přidá 100 µl substrátu. Zakryté se při pokojové teplotě nechá inkubovat 20 minut. Enzymová reakce se zastaví přidáním 50 µl 0,5M H₂SO₄. Vzniklá modrá barva se změní na žlutou, na ELISA readeru se do 30 minut změní absorbance při 450 nm.

Kalibrační křivka se vytvoří z průměru absorbancí jednotlivých kalibrátorů. K průměru ze 2 absorbancí každého vzorku se přiřadí příslušná koncentrace podle kalibrační křivky a násobí se 40 (ředicí faktor).

Všechna stanovení byla prováděna v doubletech.

Ostatní analyty (fibrinogen, AT III, D-dimery) jsou rutinně stanovovány v hematologické laboratoři VFN.

Pro hodnocení změn během studie byly použity nezávisle párový t-test a analýza rozptylu ANOVA s opakováním s faktory Fáze a Subjekt.

Toto uspořádání umožnilo oddělit podíl variability související se změnami během studie (faktor Fáze) od variability inter-individuální (faktor Subjekt) a variability nevysvětlené modelem (rozptyl reziduí). Z důvodů nesymetrie dat i reziduí a nekonstantního rozptylu u většiny sledovaných parametrů byla před vlastní analýzou provedena mocninná nebo logaritmická transformace původních závisle proměnných (parametrů). Tím bylo dosaženo přiblížení Gaussovskému rozdělení u dat i reziduí a stabilizace rozptylu. Nehomogenity byly detekovány s užitím diagnostických grafů reziduí. Experimentální body s absolutní hodnotou studentizovaného rezidua větší než 3 byly z analýzy vyloučeny. Podíl těchto bodů nikdy nepřesahoval 5% z původního počtu. Rozdíly mezi jednotlivými fázemi byly hodnoceny Bonferroniho vícenásobným porovnáváním na hladině pravděpodobnosti $p < 0,05$. Ke statistické analýze byl použit statistický software Statgraphics Plus verze 5.1.

Výsledky: Průměrná bazální hodnota hsCRP byla 3,3 mg/l. Po perorální ERT došlo k signifikantnímu ($p = 0,05$) nárůstu hladiny na 4,8 mg/l. Po transdermální léčbě hladina hsCRP mírně poklesla na 2,8 mg/l, tato změna však není statisticky významná ($p = 0,87$). Rozdíl mezi vlivem perorální a transdermální ERT na hladinu hsCRP je statisticky významný s $p = 0,002$ (Tabulka 2).

Průměrná hladina TFPI 87,5 ng/ml po perorální ERT významně ($p < 0,0001$) poklesla na 68 ng/ml. Mírný nesignifikantní ($p = 0,425$) pokles po transdermální terapii je významně ($p = 0,03$) nižší než po transdermální léčbě (Tabulka 3).

Hladina PAI-1 signifikantně ($p = 0,001$) klesá po perorální ERT z 11,39 IU/l na 5,0 IU/l. Tento pokles je významný ($p = 0,001$) i ve srovnání s minimálním ($p = 0,973$) poklesem po léčbě transdermální ERT (Tabulka 4).

Rutinně sledované markery koagulace neukázaly rozdíl mezi aplikační cestou estrogenu. V hladinách D-dimerů nedošlo k významným změnám

ani po perorální ($p = 0,711$) ani po transdermální ($p = 0,123$) ERT (Tabulka 5). AT-III významně poklesl jak po perorální ($p = 0,001$) tak po transdermální ($p = 0,047$), ovšem hodnoty se dále pohybovaly v mezích normy a mezi jednotlivými intervencemi nebyl nalezen významný rozdíl ($p = 0,116$) (Tabulka 6). Naproti tomu fibrinogen, jako reaktant akutní fáze, významně poklesl z 3,4 g/l na 3,0 g/l po perorální léčbě a na 3,2 g/l po transdermální léčbě. Pokles po perorální léčbě ($p = 0,001$) je významně ($p = 0,022$) nižší než po transdermální ($p = 0,022$) terapii (Tabulka 7).

Závěry: V referované prospektivní studii jsme prokázali, že transdermální forma ET je neutrální ke sledovaným markerům. Patrné jsou pouze nevýznamné trendy – pokles hsCRP, TFPI a PAI-1. Pokles AT III je sice statisticky významný, ale klinicky se hodnota pohybuje ve fyziologických rozmezích. Hladina D-dimerů se nemění. Perorální léčba vedla k signifikantnímu vzestupu hsCRP rizikového pro ICHS a poklesu TFPI rizikového pro tromboembolickou nemoc. Naproti tomu významné snížení PAI-1 hodnotíme jako příznivou změnu z hlediska kardiovaskulárního rizika, stejně tak pokles fibrinogenu. Nulové změny D-dimerů lze považovat za potvrzení, že nedošlo k aktivaci koagulační kaskády. Vzhledem ke konsenzuálním doporučením volby HRT neutrální k hemostatickému systému naše výsledky vyznívají příznivěji pro transdermální formu ET při hodnocení ekvivalentním dávkováním 2 mg estradiolu perorálně a 0,05 mg transdermálně.

Tabulka 2: Změny hladin hsCRP (mg/l)

		perorální ET	transdermální ET
Průměr	3,3	4,8	2,8
Směrodatná odchylka	3,0	4,8	2,0
Medián	2,7	3,7	2,0
Minimum	0,5	0,6	0,5
Maximum	13,2	19,6	7,1

Tabulka 3: Změny hladin TFPI (ng/ml)

		perorální ET	transdermální ET
Průměr	87,5	68	81,9
Směrodatná odchylka	39,0	37,5	37,3
Medián	83,6	61,2	78,4
Minimum	13,2	5	5,4
Maximum	200	151	175

Tabulka 4: Změny hladin PAI-1 (IU/ml)

		perorální ET	transdermální ET
Průměr	11,39	5	11,3
Směrodatná odchylka	12,02	5,27	11,35
Medián	6,16	3,05	7,28
Minimum	0,1	0,0	0,68
Maximum	44,4	21,7	43,3

Tabulka 5: Změny hladin D- dimerů (mg/ml)

		perorální ET	transdermální ET
Průměr	217	221,6	241,7
Směrodatná odchylka	125	125	162,6
Medián	190	192	205
Minimum	71	98	100
Maximum	716	863	860

Tabulka 6: Změny hladin fibrinogenu (g/l)

		perorální ET	transdermální ET
Průměr	3,4	3,0	3,2
Směrodatná odchylka	0,8	0,7	0,6
Medián	3,3	2,8	3,2
Minimum	2,2	1,8	2,1
Maximum	5,2	4,6	4,6

Tabulka 7: Změny hladiny AT III (%)

		perorální ET	transdermální ET
Průměr	110,2	103,3	106,1
Směrodatná odchylka	10,7	8,2	11,1
Medián	111	104	106
Minimum	85	85	88
Maximum	134	119	128

Graf 5: Statistické hodnocení změn hladin hsCRP

Analysis Summary

Dependent variable: log(hsCRP)

Factors: Stage

Subj

Selection variable: $\text{abs}((R-\text{avg}(R))/\text{sd}(R)) < 3$

Number of complete cases: 117

Analysis of Variance for log(hsCRP) - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value

MAIN EFFECTS					
A:Stage	2.40705	2	1.20353	11.87	0.0000
B:subj	75.4901	40	1.88725	18.62	0.0000
RESIDUAL	7.50197	74	0.101378		

TOTAL (CORRECTED)	85.0046	116			

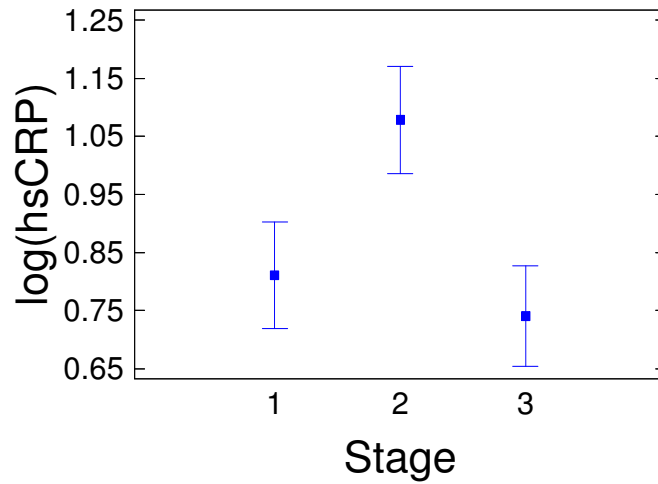
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for log(hsCRP)
with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit

GRAND MEAN	117	0.876342			
Stage					
1	38	0.810598	0.0531871	0.70462	0.916576
2	38	1.07798	0.0531871	0.972005	1.18396
3	41	0.740445	0.0497256	0.641365	0.839526

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Graf 6: Statistické hodnocení změn hladin PAI-1

Dependent variable: $(PAI1+0.1)^{0.15}$
 Factors: Stage
 subj
 Selection variable: $abs((R-avg(R))/sd(R)) < 3$
 Number of complete cases: 114
 Analysis of Variance for $(PAI1+0.1)^{0.15}$ - Type III Sums of Squares

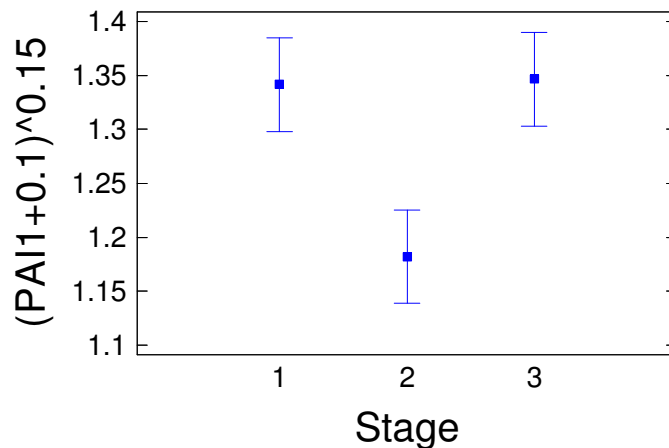
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Stage	0.666302	2	0.333151	13.93	0.0000
B:subj	4.07507	37	0.110137	4.61	0.0000
RESIDUAL	1.76932	74	0.0239098		
TOTAL (CORRECTED)	6.51069	113			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for $(PAI1+0.1)^{0.15}$
 with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	114	1.29003			
Stage					
1	38	1.34165	0.0250839	1.29167	1.39163
2	38	1.18195	0.0250839	1.13197	1.23193
3	38	1.34649	0.0250839	1.29651	1.39647

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Graf 7: Statistické hodnocení změn hladin TFPI

Dependent variable: TFPI^{0.4}
 Factors: Stage
 subj
 Selection variable: abs((R-avg(R))/sd(R))<3
 Number of complete cases: 119

Analysis of Variance for TFPI^{0.4} - Type III Sums of Squares

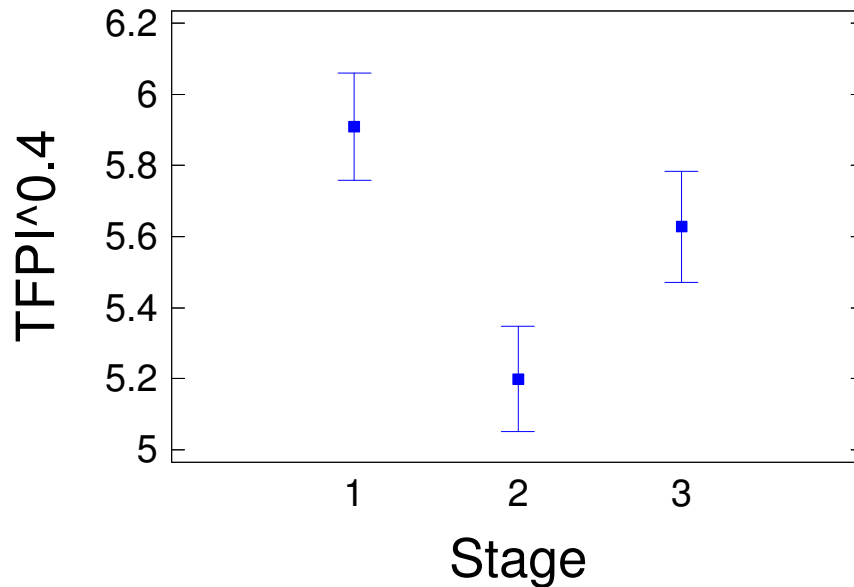
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Stage	10.318	2	5.15898	17.26	0.0000
B:subj	130.613	40	3.26532	10.92	0.0000
RESIDUAL	22.7194	76	0.298939		
TOTAL (CORRECTED)	162.74	118			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for TFPI^{0.4}
 with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	119	5.57823			
Stage					
1	40	5.90886	0.0869756	5.73563	6.08209
2	41	5.1985	0.0853885	5.02844	5.36857
3	38	5.62733	0.0903053	5.44747	5.80719

Means and 95.0 Percent Bonferroni Intervals



Vliv perorální a transdermální estrogenní substituční terapie na mikrocirkulaci

Metodika: K hodnocení mikrocirkulace byla použita metoda laser-doppleru. Byla hodnocena klidová kožní mikrocirkulace na předloktí nedominantní horní končetiny, kde je převážně nutritivní mikrovaskulární řečiště, a prstu na téže končetině, kde je převaha funkčních kapilár. K měření byly použity přístroje PeriFlux PF4001 Master a PeriTemp PF4002 Heater (Järfälla, Švédsko). K hodnocení mikrovaskulární reaktivity byl použit test s post-okluzivní reaktivní hyperémií (PORH) po tříminutové okluzi arteria brachialis a s termální hyperémií za použití speciální termostatické sondy s teplotou 44°C (TH). V obou případech byla hodnocena maximální perfúze při hyperémii a jako dynamický parametr též rychlost vzestupu perfúze během reaktivní fáze testu. Perfúze byla též vyjádřena relativní hodnotou v % klidové bazální perfúze.

Výsledky: Při opakovaném měření nebyly zjištěny statisticky významné změny klidové perfúze ani vypočítaných hodnot při testech ve srovnání s prvním měřením. Byla však nalezena statisticky významná závislost mezi procentuálně vyjádřenou reaktivní hyperémií při okluzi na prstu (PORH%1) při prvním měření na hodnotách HDL cholesterolu ($r = 0,3393$, $p = 0,0372$; $y = 1,76198413 + 0,00122934115 \cdot x$) a u stejného parametru měřeného na předloktí (PORH%2 - $r = 0,5059$, $p = 0,0007$; $y = 1,50547757 + 0,000705246599 \cdot x$). Sérová koncentrace HDL cholesterolu byla statisticky významně vyšší při opakovaných vyšetřeních ve srovnání s bazální hodnotou ($2,09 \pm 0,42$ a $1,96 \pm 0,42$ vs. $1,85 \pm 0,39$ mmol/l), nicméně korelace mezi HDL cholesterolem a parametry mikrovaskulární reaktivity nebyla při obou kontrolních vyšetřeních nalezena. Při předběžných analýzách nebyla zatím zjištěna žádná další korelace až na souvislost diastolického krevního tlaku a maximální hodnoty post-okluzivní

reaktivní hyperémie na prstu ($r = 0,5670$, $p = 0,0002$; $y = 64,4521896 + 0,0533043744 \cdot x$).

Závěr: Neprokázali jsme souvislost mezi mikrovaskulární reaktivitou a koncentracemi sexagenů, což mohlo souviset s variabilitou plazmatických hladin pohlavních hormonů po perorálním podání a relativně vyšší variabilitou metody laser-doppleru.

Závěry

Cílem projektu bylo zjistit, která z aplikačních forem estrogenní substituční terapie v dávkování 2 mg estradiolu denně perorálně respektive 0,05 mg estradiolu transdermálně je pro postmenopauzální pacientky vhodnější z pohledu kardiovaskulárního rizika.

Perorální terapie vyvolávala pozitivní změny ve smyslu zvýšení koncentrace HDL-cholesterolu a poklesu inhibitoru aktivátoru protrombinu (PAI-1). Na druhé straně ovšem způsobovala vzestup triglyceridů, vysoce citlivého C- reaktivního proteinu (hsCRP) a pokles inhibitoru aktivace tkáňovým faktorem (TFPI).

Transdermální terapie byla spojena s vzestupem HDL-cholesterolu. K ostatním sledovaným markerům se chovala neutrálně.

Z hlediska kardiovaskulárních rizik je transdermální forma estrogenní substituční terapie díky své neutrální povaze vhodnější než perorální.

Volba terapie musí být individuální. Znalost počátečních hodnot lipidogramu a dalších faktorů kardiovaskulárního rizika může pomoci při volbě aplikační formy, dávkování či složení hormonální substituční terapie.

Conclusion

The aim of project was to evaluate which of application forms of estrogen replacement therapy (in daily doses 2 mg estradiol orally or 0,05 mg estradiol transderma) is better for postmenopausal women from the view of cardiovascular risk. Oral application was conected with favourable elevation of HDL-cholesterol level and lowering of prothrombin activator inhibitor (PAI-1). On the other side there were elevation of triglycerides and high selective C-reactive protein (hs CRP) and lowering of tissue factor pathway inhibitor (TFPI). Transdermal therapy was conjoined with elevation of HDL-cholesterol. Other markers were not influenced by this application form.

Transdermal estrogen replacement therapy is more favourable than oral estrogen replacement therapy from the view of cardiovascular risks.

The choice of hormone replacement therapy must be strongly individual. The knowledge of level lipids and other factors of cardiovascular risk, could be helpfull during choice of application form, dose and contents of hormone replacement therapy.

Přílohy

Publikační aktivity vztahující se k tématu disertační práce

Publikace v impaktovaných časopisech:

- 1) Fait T., Vrablík M., Cibula D. et al.: Oral but not Transdermal Estrogen Replacement Therapy Reduced Level of Tissue Factor Pathway Inhibitor: Cross-over Designed Study. **Neuro Endocrinol Lett** 2006 Oct 12, 27(5), p. 557-61 *SSN 0172-780X IF 1,005*
- 2) Fait T., Vrablík M., Zizka Z., Kostirova M.: Changes in Haemostatic Variables Induced by Estrogen Replacement Therapy: Comparison of Transdermal and Oral Methods of Administration in Cross-over Designed Study, **Gynecol Obstet Invest** 2007, 65 (1), p. 47-51 *ISSN 0378-7346 IF 0,81*
- 3) Prazny M., Fait T., Vrablík M.: Effect of early estrogen replacement therapy on microvascular reactivity in patients after bilateral ovariectomy, **Neuro Endocrinol Lett** 2007 August, 28 (4), p. 496-501 *ISSN 0172-780X IF 1,005*
- 4) Živný J., Jeníček J., Fait T. et al.: Changes in bone density and bone metabolism in women with surgically induced menopause treated with a hormone replacement drug containing estradiol valerate and levonorgestrel, **Drugs of Today** 2001, 37, Suppl. C, p. 37-44 *ISSN 0025-7656 IF 0,626*

Publikace v indexovaných časopisech:

- 5) Fait T., Málková J., Živný J.: Vliv hormonální substituční terapie na kardiovaskulární systém, *Čes. Gynek.* 2002, 67, 5, s. 285-93
- 6) Fait T., Vrablík M.: Změny lipidového spektra při užívání hormonální substituční terapie, *Čas. lék. čes.* 2004, 143, 2, s. 101-5
- 7) Fait T., Vokrouhlická J., Vrablík M., Jeníček J.: Současné postavení hormonální substituční terapie, *Čas. lék. čes.* 2004, 143, 7, s. 447-52
- 8) Fait T.: Kolorektální karcinom a hormonální substituční terapie, *Čes a Slov Gastroent a Hepatol* 2005, 59(4), s. 177-80
- 9) Fait T.: Hormonální substituční terapie a oční nemoci, *Čes. a slov. Oftal.* 2005, 61, 5, s. 337-40

- 10) Fait T., Vrablík M., Koštířová M.: Vliv různých aplikačních forem estrogenní substituční terapie na hladiny C-reaktivního proteinu, Čas lék čes 2006, 145, 7, s. 571-4
- 11) Fait T., Vrablík M., Žižka Z., Trnková B., Mašata J., Živný J.: Vliv časně zahájené transdermální a perorální estrogenní substituční terapie na lipidový profil – prospektivní studie s cross-over designem, Čes Gynek 2006, 71, 3, s. 226-30
- 12) Fait T., Trnková B., Koštířová M., Vrablík M.: Stanovení hladin TFPI a jejich změny při estrogenní substituční terapii, Čes Gynek 2007, 72, 5, v tisku
- 13) Fait T., Zizka Z.: Mammographic density – a risk factor for breast cancer, Prague Medical Report 2007, 3, v tisku
- 14) Žižka Z., Fait T., Vrablík M.: Změny hladin inhibitoru aktivace plasminogenu (PAI-1) v průběhu estrogenní substituční terapie, Čas lék čes. 2007, 146, 11, v tisku
- 15) Kaprál A., Hyánek J., Fait T. a kol.: Homocystein, ovariectomie a estrogenní substituční terapie, Klin. biochem. a metab. 2003, 11, 4, s. 226-30

Monografie

- 16) Fait T.: Klimakterická medicína, Maxdorf Jessenius, Praha 2006, s. 103
- 17) Fait T., Šnajderová M. a kol.: Estrogenní deficit, Maxdorf Jessenius, 2007, p. 276
- 18) Živný J., Fait T.: Endokrinologie stárnoucí ženy, s. 677-88, in: Kalvach Z., Zadák Z., Jiráček R. a kol.: Geriatrie a gerontologie, Grada Publishing, Praha, 2004, s. 864

Další publikace

- 19) Fait T., Vrablík M.: Vývoj názorů na vliv hormonální substituční terapie na riziko ischemické choroby srdeční, Prakt. Gynek. 2002, 6, 6, s. 19-21
- 20) Fait T.: Hormonální substituční terapie a riziko karcinomu prsu, Iatrike techne 2002,7, s. 38-41
- 21) Fait T.: Hormonální substituční terapie a riziko karcinomu prsu, Lékařské listy (příloha Zdravotnických novin) č. 47, 2002, s. 8 – 9
- 22) Fait T.: Individualizace hormonální substituční terapie, Postgraduální medicína 2003, 5, 2, s. 144-9
- 23) Fait T.: Sexuální hormony, pánevní dno a urogenitální trakt, Mod. Gyn. Por. 2003, 12, 1, s. 31-6
- 24) Fait T., Živný J.: Úskalí hormonální substituční terapie, Farmakoterapeutické informace 2003, 4, s. 1-3

- 25) Fait T.: Devět studií, které otráslly klimakterickou medicínou, Iatrike techne 2003, 5, s. 8-10
- 26) Fait T.: Moderní trendy v hormonální substituční terapii, Lékařské listy (příloha Zdravotnických novin) č. 24, 2003, s. 32-4
- 27) Fait T.: 6. evropský kongres o menopauze, Prakt. Gynek. 2003, 7, 3, s. 31-2
- 28) Fait T.: Komentář článku: Nepravidelné krvácení a špinění u postmenopausálních žen (Holst T. et al., Maturitas 2002,43: 265-75), Prakt. Gynek. 2003, 7, 3, s. 28-30
- 29) Fait T.: Komentář - Speroff L., Clarkson T.B.: Je tibolon reálnou alternativou hormonální substituční terapie, Gyn. po promoci 2003, III, 5, s. 27-9
- 30) Fait T.: Tibolon - tak trochu jiná HRT, Prakt. Gynek. 2003, 7, 6, s. 6-8
- 31) Fait T.: STEARs: tibolon - kategorie sama pro sebe, Gyn. po promoci 2003, III, 6, s. 58
- 32) Fait T.: Klimakterium a hormonální substituční terapie, Moderní babictví 3, leden 2004, s. 3-12
- 33) Fait T.: Zprávy z odborných akcí: Dienogest - od kontracepce k menopauze, Prakt Gynek 2004, 8, 1, s. 42-3
- 34) Fait T.: Transdermální a perkutánní terapeutické systémy, Mod Gyn Por 2004, 13, 2 Suppl., s. 327-31
- 35) Fait T.: Zpráva z kongresu: Zdraví žen a menopauza, Prakt Gynek 2004, 8, 4, s. 58-60
- 36) Fait T.: Změny v indikačním spektru hormonální substituční léčby, Lékařské listy 2004, 41, s. 12-3
- 37) Fait T.: Současný přístup k hormonální terapii, Mod Gyn Por 2004, 13, 4 Suppl. A, s. 733-41
- 38) Fait T.: Zpráva z kongresu - 4th Amsterdam Menopause Symposium, Prakt. Gynek. 2004, 8, 6, s. 43-5
- 39) Fait T.: Vliv hormonální substituční terapie na poměr pas - boky, Prakt Gynek 2005, 9, 2, s. 21-2
- 40) Fait T.: Aktuální otázky klimakterické medicíny, Medinews 2005, 1, s.42-4
- 41) Fait T.: Klinický význam vlivu hormonální terapie na riziko vzniku kolorektálního karcinomu, Prakt Gynek 2005, 9, 3, s. 22-5
- 42) Fait T.: Atrofická vulvovaginitis, Mod Gyn Por 2005, 14, 2, s.273-7
- 43) Fait T., Živný J.: Léčba akutního klimakterického syndromu, Farmakoterapeutické informace 2005, 9, s. 1-4

- 44) Fait T.: Klinické zkušenosti s nízkodávkovanou hormonální substituční terapií, Prakt Gynek 2005, 9, 4, s. 29-32
- 45) Fait T.: Současný pohled na vztah hormonální substituční terapie a očních nemocí, Prakt Gynek 2005, 9, 5, s. 20-3
- 46) Fait T., Vokrouhlická J.: Prevence postmenopauzální osteoporózy nízkodávkovanou hormonální substituční terapií, Gyn. po promoci 2005, V, 5, s. 68-9
- 47) Fait T.: Současné postavení hormonální terapie v klimakterické medicíně, Farmakoterapie 2005, 1, 5, s. 507-13
- 48) Fait T., Jeníček J.: 11. světový kongres o menopauze – IMS Buenos Aires 2005, Klimakterická medicína 2005, 10, 4, s. 12 – 3
- 49) Fait T.: 11. světový kongres o menopauze: zpráva z kongresu, Prakt Gynek 2006, 10, 1, s. 20-1
- 50) Fait T., Kaprál A.: Hormonální substituční terapie u žen s anamnézou endometriózy, Prakt Gynek 2006, 10, 1, s. 18-9
- 51) Fait T.: Hormonální substituční terapie a ischemická choroba srdeční, Klimakterická medicína 2006, 11, 1, s. 8-12
- 52) Fait T.: Hormonální substituční terapie a kost, Klimakterická medicína 2006, 11, 2, s. 21-5
- 53) Fait T.: Riziko tromboembolické nemoci při HRT, Klimakterická medicína 2006, 11, 3, s. 16-9
- 54) Fait T.: Zpráva z workshopu: Management kardiovaskulárních rizikových faktorů v perimenopauze, Klimakterická medicína 2006, 11, 4, s. 34
- 55) Fait T.: Poruchy menstruačního cyklu v perimenopauze a jejich řešení, Klimakterická medicína 2006, 11, 4, s. 19-23
- 56) Fait T.: Je mamografická densita rizikovým faktorem karcinomu prsu? Ano!, Klimakterická medicína 2007, 12, 1, s. 24-31
- 57) Fait T.: Demence a hormonální substituční terapie, Klimakterická medicína 2007, 12, 2, s. 10-1
- 58) Fait T.: Tibolon v klinických studiích, Farmakoterapie 2007, 3, 3, s. 266-70
- 59) Fait T.: Hormonální substituční terapie a endometrióza, Klimakterická medicína 2007, 12, 3, s. 25-8
- 60) Fait T.: 5. amsterdamské menopauzální symposium - zpráva, Klimakterická medicína 2007, 12, 3, s. 36-8
- 61) Fait T.: Hormonální terapie a osteoporóza, Medical Tribune 2007, 3, 28, s. C2

- 62) Fait T.: Hormonální léčba inkontinence, *Klimakterická medicína 2007*, 12, 4, s. 18-20
- 63) Fait T.: Současný pohled na vliv hormonální substituční terapie na kardiovaskulární rizika – update 2007, *Klimakterická medicína 2007*, 12, 4, s. 5-7
- 64) Fait T.: 7th International Novo Nordisk Symposium, *Klimakterická medicína 2007*, 12, 4, s. 32-3
- 65) Fait T.: HT a osteoporóza – update 2007, *Klimakterická medicína 2007*, 12, 4, s. 7-8
- 66) Živný J., Fait T.: Hormonální substituce estrogenního deficitu, *Prakt. Gynek.* 2003, 7, 2 Suppl. Osteoporóza, s. 11-3
- 67) Živný J., Fait T.: Endokrinologie klimakteria a hormonální substituční terapie, *Psychiatrie pro praxi* 2003, 3, s. 101-6
- 68) Jeníček J., Fait T.: Prospektivní studie užití dydrogesteronu v premenopauze a perimenopauze, *Prakt Gynek* 2004, 8, 2, s. 24-5
- 69) Čepický P., Burdová M., Cibula D., Donát J., Dvořák K., Fait T. et al.: Doporučení k hormonální terapii a substituci perimenopauzy a postmenopauzy, *Čes. Gynek.* 2003, 68, 2, s. 125-7; *Mod. Gyn. Por.* 2003, 12, 4, s. 707-11
- 70) Kaprál A., Fait T.: Estrogeny v životním prostředí a jejich význam v klimakterické medicíně, *Prakt. gynek.* 2003, 7, 4, s. 10-3
- 71) Stuchlíková A., Žofková J., Fait T.: Postmenopauzální osteoporóza, *Postgraduální medicína* 2003, 5, 4, s. 388-93

Přednášky abstrahované:

- 72) Fait T., Kaprál A., Živný J.: The wide dosage's variability of percutaneous estrogen gel increases compliance of estrogene replacement therapy, 6th European Congress on Menopause (EMAS 2003), Bucharest, 25.5.03 (*Maturitas Vol. 44 Suppl. 2, May 15 2003, FC02.7*) ISSN 0378-5122 IF 2,045
- 73) Fait T., Kaprál A., Hrušková H.: Individualizace hormonální substituční terapie v praxi, Celostátní konference SSG ČR a ČGPS, Brno, 30.5.-1.6.03 (*Prakt. Gynek.* 2003, 7, 2, s. 28)
- 74) Fait T., Kaprál A., Hrušková H.: Individualizace hormonální substituční terapie v praxi, Celostátní konference SSG ČR a ČGPS, Brno, 30.5.-1.6.03 (*Prakt. Gynek.* 2003, 7, 2, s.28)
- 75) Fait T.: Endometrióza a HRT, 6. mezinárodní kongres gynekologické laparoskopie a pánevní chirurgie, Nemocnice Na Homolce Praha, 2. - 3. 4.04 *Abstrakta*

- 76) Fait T., Vrablík M.: HRT a kardiovaskulární nemoci - přání a skutečnost, VI. celostátní konference Sekundární osteoporóza, Plzeň, 16.-17.4.04 *Abstrakta*
- 77) Fait T., Kapral A., Hruskova H.: HRT in women with a history of endometriosis, 6th regional meeting of the ISGE - Endometriosis challenge of our time, Cape Town, 6.-8.9.04
- 78) Fait T.: Je vyčlenění skupiny STEARs oprávněné?, 6. mezinárodní konference o menopauze, Ostrava, 21.-23.10.04 (*Prakt. Gynek.2004, 8, 5 Suppl 1, s. 18*)
- 79) Fait T., Vrablík M., Živný J.: Postavení HRT v prevenci ischemické choroby srdeční - vývoj názorů, 6. mezinárodní konference o menopauze, Ostrava, 21.-23.10.04 (*Prakt. Gynek. 2004, 8, 5,s. 11-2*)
- 80) Fait T.: Syndrom příznaků menopauzy a jeho léčba - Aesculap jaro 2005, Edukafarm - 14.3. Hradec Králové - 17.3. Brno - 7.4. Olomouc - 2.5. Ostrava - 4.5. České Budějovice - 18.5. Liberec - 23.5. Praha *Abstrakta s. 37-40*
- 81) Fait T., Vrablík M., Masata J., Kostirova M., Trnkova B.: Cross-over designed study of changes in atherosclerosis risk factors induced by the two different application methods of estrogen replacement therapy, 11th World Congress on the Menopause, Buenos Aires, 18.-22.10.2005 (*Climacteric Vol 8 Suppl 2 Oct 2005 p. 93-4*) ISSN 1369-7137, IF 1,932
- 82) Fait T.: HRT, její význam a současná doporučení, Symposium Novinky v HRT, Praha 5.1.06 - Brno 11.1.06 *Abstrakta*
- 83) Živný J., Fait T.: Měření kostní hmoty u žen v menopauze, 6. mezinárodní konference o menopauze, Ostrava, 21.-23.10.04 (*Prakt. Gynek.2004, 8, 5 Suppl 1, s.10*)
- 84) Kapral A., Hyanek J., Fait T., Živný J., Haakova L., Pejznochova H., Dubská L., Hladikova E.: Homocysteine, ovariectomy and estrogen replacement therapy, FIGO 2003, Santiago de Chile, 2.-7.11.03 (*Int J Gynecol Obstet 2003, 83, Suppl. 3, FC 5.11.5*) ISSN 0020-7292 IF 0,8
- 85) Vokrouhlická J., Fait T.: Přínosy a rizika HRT z pohledu prevence osteoporózy, 6. mezinárodní konference o menopauze, Ostrava, 21.-23.10.04 (*Prakt. Gynek. 2004, 8, 5 Suppl. 1, s. 11*)
- 86) Fait T., Vrablík M.: HRT a osteoporóza, VII. celostátní konference Sekundární osteoporóza, Plzeň 31.3. – 2.4.06 *Abstrakta s.24*
- 87) Fait T., Vrablík M.: Oral but not transdermal form of estrogen replacement therapy increases hsCRP levels, FIGO, Kuala Lumpur, 5.-10.10. 2006 *Abstrakta Book 2 p. 72 FC2.17*

- 88) Fait T.: Tibolon – lék volby pro postmenopauzální ženy?, Celostátní konference SSA a ČGPS, Praha 25.-27. 5. 07 (*Prakt gynek 2007, 11(2), Suppl. s. 34*)
- 89) Fait T.: HRT a kardiovaskulární systém z pohledu gynekologa, 9. konference o menopauze, Brno 18.-20.10.07 (*Klimakterická medicína 2007, 12,2 Suppl., s. 13*)
- 90) Fait T.: Mamografická denzita je rizikový faktor, 9. konference o menopauze, Brno 18.-20.10.07 (*Klimakterická medicína 2007, 12,2 Suppl., s. 13*)
- 91) Fait T.: Možnosti léčby osteoporózy gynekologem, 9. konference o menopauze, Brno, 18.-20.10.07 (*Klimakterická medicína 2007, 12,2 Suppl., s. 18*)

Postery abstrahované:

- 92) Fait T., Zivny J., Jenicek J., Vrablik M., Kapral A.: Safety and efficiency of a long term hormone replacement therapy (HRT) - the 7 years experiences, FIGO 2003, Santiago de Chile, 2.-7.11.03 (**Int J Gynecol Obstet 2003,83 Suppl. 3, THP87**) ISSN 0020-7292 IF 0,8
- 93) Fait T., Vrablík M.: Klinický význam vlivu hormonální substituční terapie na lipidové spektrum, VII. kongres o ateroskleróze, Špindlerův mlýn, 4.-6.12.03 (*DMEV 2003, 6 Suppl. 3, s. 51*)
- 94) Fait T., Vrablik M.: Sequential hormone replacement therapy in perimenopause and its influence on plasma lipids and other metabolic markers, 74. EAS Congress, Seville, 17.-20.4.04 *M. 509* (**Atherosclerosis 2004, 5 Suppl 1, p. 117**) ISSN 0021-9150 IF 3,77
- 95) Fait T., Vrablik M.: Early Start of Sequential Hormone Replacement Therapy in Perimenopause has Neutral or Possitive Effects on Metabolic Markers, 5th International Symposium Women´s Health and Menopause, Florence, 21.- 24.4.04 *Abstrakta*
- 96) Fait T., Kostirova M., Vrablik M., Trnkova B.: Prospective randomized study of metabolic changes caused by two application forms of ERT, 4th Amsterdam Menopause Symposium, 2.-4.10.04 *CV 12 Abstrakta p.107*
- 97) Fait T., Vrablik M., Trnkova B., Hruskova H.: Changes of serum levels of hs-CRP and PAI-1 as markers of cardiovascular safety of hormone replacement therapy, 12th World Congress on Human Reproduction, Venice, 10.-13.3.05 *Abstrakta*
- 98) Fait T., Vrablik M., Kostirova M.: Changes of plasma atherosclerosis risk factors´ levels caused by estrogen replacement therapy, 75th EAS Congress, Prague, 23.-26.4. 2005 – *W16-P-025 (Atherosclerosis 2005, 6, 1, p. 106-7) ISSN 0021-9150 IF 3,77*

- 99) Fait T., Zivny J.: Measurement of bone mineral density by ultrasound and forearm DXA in clinical practice, IOF World Congress on Osteoporosis, Toronto 2.-6.6.06 (**Osteoporos Int** 2006, 17 Suppl 2, S 207)
- 100) Vrablík M., Fait T., Kovar J. et al.: Estrogen replacement therapy decreases RLP concentration in plasma: oral and transdermal ERT comparison, WeP 1228, XIV. International Symposium on Atherosclerosis, Roma 18.-22.6.06 (**Atherosclerosis Supp** 2006, 7 (3), p. 407) ISSN 1567-5688 IF 8,96
- 101) Vrablík M., Fait T., Kovář M. a kol.: Estrogenní substituční léčba snižuje plasmatickou hladinu RLP: srovnání perorální a transdermální aplikační cesty. X. kongres o ateroskleróze, Špindlerův Mlýn 7.-9.12.06 (Vnitřní lékařství 2006, 52, p. 1257-8)
- 102) Vrablík M., Fait T., Kovar J. et al.: Estrogen replacement therapy lowers RLP concentration: oral and transdermal administration compared, 76th Congress EAS, PO22-705, Helsinki, 10.-13.6.07 **Atherosclerosis Supp** 2007,8(1), p.188 ISSN 1567-5688 IF 8,96

Texty impaktovaných publikací k tématu disertační práce

**Texty některých indexovaných publikací k tématu disertační
práce**