

Vpliv menstruacijskega ciklusa na teste hemostaze*

The effect of menstrual cycle on hemostatic tests

Katarina Šmuc**, Monika Štalc***

Deskriptorji
menstruacijski cikel
fibrinoliza
krvna koagulacija testi

Descriptors
menstrual cycle
fibrinolysis
blood coagulation tests

Izveček. V raziskavo smo vključili 31 zdravih prostovoljk z normalnim menstruacijskim ciklusom (25–35 dni). Glede na starost smo jih razdelili v skupino mladih deklet in predmenopavzalnih žena. Med menstruacijskim ciklusom smo preiskovankam štirikrat v tedenskih razmikih odvzeli venško kri in merili plazemsko koncentracijo fibrinogena, plazemsko koncentracijo antigena tkivnega aktivatorja plazminogena (t-PA), aktivnost t-PA, plazemsko koncentracijo antigena inhibitorja t-PA (PAI-1), aktivnost PAI-1 in čas evglobulinske lize. V folikularni in luteinski fazi menstruacijskega ciklusa smo določali tudi plazemske koncentracije estradiola in progesterona. Vrednosti fibrinolitičnih parametrov v posameznih fazah menstruacijskega ciklusa smo primerjali znotraj vsake skupine. Pri mladih preiskovankah smo ugotovili značilno povečanje aktivnosti PAI-1 v luteinski fazi v primerjavi s folikularno in ovulacijsko fazo. Ostali fibrinolitični parametri se med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa niso statistično pomembno spreminjali niti pri mladih niti pri predmenopavzalnih preiskovankah. Primerjava fibrinolitičnih parametrov med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami je pokazala razlike v koncentraciji antigena t-PA, aktivnosti t-PA, koncentraciji antigena PAI-1, aktivnosti PAI-1 in razlike v času evglobulinske lize v vseh fazah menstruacijskega ciklusa. V celotni skupini in pri mladih preiskovankah smo našli v luteinski fazi povezavo med koncentracijo progesterona in plazemsko koncentracijo fibrinogena. Pri predmenopavzalnih preiskovankah je bil značilen porast koncentracije estradiola v luteinski fazi povezan z upadom koncentracije in antigena PAI-1. Pri vseh preiskovankah smo v luteinski fazi ugotovili povezavo med porastom koncentracije progesterona in povečano aktivnostjo t-PA. Na osnovi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da je za vrednotenje rezultatov testov hemo-

Abstract. We studied 31 healthy volunteers with a normal menstrual cycle, who were divided according to their age into a group of younger women and a group of premenopausal women. During four phases parts of the menstrual cycle, blood samples were drawn for determination of serum fibrinogen, tissue plasminogen activator (t-PA) antigen, t-PA activity, t-PA inhibitor (PAI-1) antigen, PAI-1 activity, and euglobulin clot lysis. Blood samples for determination of serum estradiol and progesterone levels were obtained during the follicular and luteal phase of the menstrual cycle. Then values of fibrinolytic parameters for individual menstrual cycle phases were compared within each group. In young women, PAI-1 activity determined during the luteal phase differed significantly from PAI-1 activity measured during the follicular and ovulatory phase. As for other fibrinolytic parameters, no significant changes were found in either group. Statistically significant differences were established between young and premenopausal women as concerns their serum t-PA antigen, t-PA activity, PAI-1 antigen, PAI-1 activity and euglobulin clot lysis in all phases of the menstrual cycle. During the luteal phase, there was a correlation between serum fibrinogen and progesterone levels in the whole group and in the group of young women, while the premenopausal group showed a significant increase in serum estradiol which correlated with a decrease in PAI-1 antigen and PAI-1 activity. Both groups demonstrated a correlation between increased serum progesterone and elevated t-PA activity during the luteal phase. The results of this study stress the importance of analysing hemostatic parameters on exactly determined days of the menstrual cycle. In conclusion, premenopausal women showed lesser fibrinolytic activity than young females. The drop in serum PAI-1 antigens and PAI-1 activi-

*Objavljeno delo je bilo nagrajeno s Prešernovo nagrado za študente v letu 1994.

** Katarina Šmuc, štud. med., Klinika za žilne bolezni, Trnovo, Riharjeva 24, 1000 Ljubljana.

***Monika Štalc, štud. med., Klinika za žilne bolezni, Trnovo, Riharjeva 24, 1000 Ljubljana.

staze pri ženskah smiselno upoštevanje dneva menstruacijskega ciklusa. Ugotovili smo tudi, da obstajajo med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami statistično pomembne razlike v vrednostih fibrinolitičnih parametrov. Upad koncentracije antigena in aktivnosti PAI-1 v luteinski fazi pri predmenopavzalnih preiskovankah kaže na možen pomen estradiola pri uravnavanju fibrinolitične aktivnosti krvi.

ty, occurring during the luteal phase, suggests that estradiol may have an important role in the regulation of blood fibrinolytic activity.

Uvod

Razlika v pogostosti srčno-žilnih bolezni med spoloma ni v celoti razložena. Epidemiološke raziskave kažejo, da ženske do menopavze redkeje obolevajo za srčno-žilnimi boleznimi kot moški. Po menopavzi se ta razlika manjša in se ogroženost žensk zaradi koronarne bolezni po menopavzi več kot podvoji (1, 2). Razlog za manjšo obolevnost žensk do menopavze ni dokončno pojasnjen. Domnevajo pa, da imajo določen varovalni vpliv ženski spolni hormoni, predvsem estrogeni (3). Ugotovitve, da so ženske v rodnem obdobju sorazmerno zavarovane pred arterijsko trombozo (4), in da njen razvoj v menopavzalnem obdobju zavira nadomestno hormonsko zdravljenje (5), kažejo na možni zaščitni pomen ženskih spolnih hormonov.

Varovalni mehanizmi delovanja estrogenov še niso popolnoma pojasnjeni (6). Verjetno obstajata dva možna načina varovalnega delovanja estrogenov, in sicer preko vpliva na presnovo maščob in na hemostazo. Znano je, da estrogeni zmanjšujejo koncentracijo lipoproteinov majhne gostote (LDL) in celotnega holesterola v plazmi, povečujejo pa plazemsko koncentracijo lipoproteinov visoke gostote (HDL) (4, 7). Razlike v obolevnosti med moškimi in ženskami povezujejo tudi z vplivom estrogenov na hemostatične parametre (7, 8). Domneve o možnem vplivu estrogenov na teste hemostaze so osnovane na epidemioloških in kliničnih raziskavah. Izkazalo se je, da nadomestno hormonsko zdravljenje v menopavzi zmanjšuje plazemsko koncentracijo fibrinogena, ki je dejavnik tveganja za koronarno bolezen. Pomembno je spoznanje, da je trebušni tip debelosti, značilen za ženske v menopavzi, ki pogosteje zbolevalo za koronarno boleznijo, povezan s spremembami v fibrinolitičnem encimskem sistemu (8). Na možen vpliv estrogenov na fibrinolitični encimski sistem nas opozarjajo tudi študije, ki raziskujejo vrednosti hemostatičnih parametrov pri ženskah, ki uporabljajo oralne kontraceptive. Avtorji so opisali zvišano plazemsko koncentracijo fibrinogena (9) in povečano fibrinolitično aktivnost krvi (10) kot posledico povišane koncentracije tkivnega aktivatorja plazminogena (t-PA) in upada koncentracije inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena (PAI-1) (11). Te spremembe hemostatičnih parametrov bi lahko pomenile povečano tveganje za razvoj akutnega miokardnega infarkta, tromboemboličnih zapletov, povišanega krvnega tlaka in možganske kapi pri ženskah, ki uporabljajo oralne kontraceptive (12, 13).

Fibrinolitični encimski sistem

Osnovna naloga fibrinolitičnega encimskega sistema je razgradnja fibrina. Ključni encim plazemskega fibrinolitičnega encimskega sistema je plazmin. Plazmin nastaja

s proteolizo iz encimsko neaktivnega predhodnika, plazminogena, pod vplivom aktivatorjev plazminogena (14). Poznamo dva sistema endogene aktivacije plazminogena. Prvi, ekstrinzični sistem, poteka preko tkivnega aktivatorja plazminogena (t-PA), ki se sprošča iz žilnega endotela. Drugi, intrinzični sistem, predstavljajo humoralni predhodniki, ki se verjetno aktivirajo po dveh poteh: s Hagemanovim faktorjem ali neodvisno od njega (9).

Vzporedno z aktivacijo v krvi neprestano poteka tudi inhibicija fibrinolitičnega sistema. Glavni inhibitor plazmina v plazmi je α -2-antiplazmin, manjšega pomena pa je počasnejši inhibitor α -2-makroglobulin. Tretji način inhibicije je hitro delujoči PAI-1 (15). Glede na izvor ločimo več tipov PAI-1. PAI-1 nastaja v endotelnih celicah, trombocitih in hepatocitih. PAI-2 izhaja iz posteljice in je pomemben med nosečnostjo in pri porodu (16). PAI-3 so odkrili v seču (17). V kulturah fibroblastov so našli še četrti inhibitor t-PA, proteazo nekisin, ki ga je mogoče najti tudi na površini trombocitov (18).

Ker je uravnava fibrinolitičnega encimskega sistema ključnega pomena za vzdrževanje hemostatskega ravnovesja, uvrščamo meritve fibrinolitične aktivnosti krvi med osnovne preiskovalne metode za odkrivanje nagnjenja k trombozi.

Menstruacijski cikel

Med menstruacijskim ciklusom se hormonsko stanje spreminja. Menstruacijski cikel traja povprečno 28 dni. Začetek menstruacijskega ciklusa je prvi dan krvavitve, ovulacija nastopi pri 28-dnevnem ciklusu 14. dan.

Šestindvajsetega ali sedemindvajsetega dne ciklusa se začne v jajčniku pod vplivom folikel stimulirajočega hormona razvoj od 10 do 15 primordialnih foliklov, od katerih le eden dozori v zrel Graafov folikel. V razvijajočem se foliklu se v celicah teke in granulose tvorijo estrogeni, med katerimi je največ 17- β -estradiola. Ta proces tvorbe estrogenov v enoti celic teke in granulose narašča do 12. dneva ciklusa, ko koncentracija estrogenov v krvi doseže preovulacijski vrh. Ko se sklone dozorevanje folikla, nastopi ovulacija v 6 do 18 urah. Ovulaciji sledi luteinska faza, v kateri pride do luteinizacije celic teke in granulose. Tako nastane rumeno telesce, ki tvori estrogene, progesteron in prostaglandin F₂. Rumeno telesce dozori 21. dan ciklusa in je aktivno do 26. dne, ko se začne luteoliza. Koncentracija estrogenov in progesterona hitro pade in začne se faza menstruacijske krvavitve (19).

Oris problema

Vpliv faze menstruacijskega ciklusa na hemostatski sistem je slabo raziskan. Spoznana posameznih avtorjev se pogosto razhajajo. Medtem ko so nekateri opisali povišano koncentracijo fibrinogena v luteinski fazi (4, 7), so drugi ugotovili povišano koncentracijo fibrinogena v folikularni in ovulacijski fazi (12, 20).

V literaturi smo našli le nekaj podatkov o nihanju fibrinolitičnih parametrov med menstruacijskim ciklusom (10, 21).

Nekateri avtorji so mnenja, da moramo pri vrednotenju koagulacijskih parametrov in fibrinolitične aktivnosti ob odvzemu krvi upoštevati tudi fazo menstruacijskega ciklusa (4, 7).

Namen dela

V naši raziskavi smo želeli ugotoviti:

- ali obstaja med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa nihanje vrednosti fibrinolitičnih parametrov in ali je treba standardizirati obdobje menstruacijskega ciklusa, ki je ustrezno za proučevanje hemostatskih testov;
- ali se vrednosti hemostatskih parametrov med menstruacijskim ciklusom razlikujejo pri populaciji mladih in predmenopavzalnih žensk.

Preiskovanke, materiali in metode

Preiskovanke

V raziskavo smo vključili 31 zdravih prostovoljk. Razdelili smo jih v dve skupini. V prvi je bilo 20 deklet, starih od 21 do 27 let (srednja vrednost 22,5 let). Vse so bile nekadilke, zmerno telesno aktivne, brez srčno-žilnih bolezni v družini. Telesno težo in krvni tlak so imele v mejah normale. Drugo skupino je sestavljalo 11 žena, starih od 40 do 48 let (srednja vrednost 44,3 let). Štiri so bile zmerne kadilke (manj kot 10 cigaret na dan), vendar so se na dan preiskave vzdržale kajenja. Krvni tlak so imele vse v mejah normale. Štiri preiskovanke so imele povečano telesno težo, nobena od preiskovank pa ni bila debela (body mass index (BMI) > 30 kg/m²).

Vse preiskovanke so imele reden menstruacijski ciklus od 25 do 35 dni. Nobena od preiskovank v času raziskave ni uporabljala oralne kontracepcije, nadomestnega hormonskega zdravljenja ali katerih koli drugih zdravil.

Preiskovanke so bile seznanjene s cilji in načinom izvedbe naloge. S podpisom pristopne izjave so potrdile svoje prostovoljno sodelovanje. Raziskavo je odobrila Republiška komisija za medicinsko-etična vprašanja.

Odvzem krvi

Kri smo jemali zjutraj med sedmo in deveto uro. Preiskovanke so bile spočite in tešče, pred odvzemom so sede počivale 15 minut. Med odvzemom krvi so sedele. Kri smo jemali iz komolčne vene brez zažema; odvzeli smo štiri vzorce v enotedenskih razmikih med ciklusom: 5.–9. dan (folikularna faza), 12.–16. dan (ovulacijska faza), 19.–24. dan (luteinska faza) in po 25. dnevu (menstruacijska faza).

Kri za določanje hemostatičnih parametrov smo vsakič odvzemali v dve epruveti: v 10 ml epruveto z 1 ml 0,13 mol/l Na citrata in v 5 ml epruveto z 0,5 ml 0,45 mol/l Na citratnega pufra (Stabilyte, Biopool, Švedska). Epruvete smo do centrifugiranja hranili v ledeni kopeli največ 30 minut. Kri smo nato centrifugirali pri 2000 × g/min in 4 °C v nihajnem rotorju 30 minut. Plazmo smo odpipetirali v plastične epruvete in nato zamrznili v tekočem dušiku. Do analize smo vzorce hranili pri –70 °C.

Kri za določitev koncentracije hormonov smo odvzeli dvakrat med menstruacijskim ciklusom: 5.–9. dan in 19.–24. dan v 5 ml vakuumske epruvete brez antikoagulacijskega sredstva. Kri smo centrifugirali pri 4000 × g/min v nihajnem rotorju 10 minut. Plazmo smo

nato odpipetirali v plastične epruvete ter zamrznili v tekočem dušiku. Vzorce smo do analize hranili pri -70°C .

Kri za določitev koncentracije lipidov smo odvzeli v 10 ml vakuumsko epruveto brez antikoagulacijskega sredstva.

Kri za določitev hemograma smo odvzeli v 3 ml vakuumsko epruveto z dodatkom EDTA.

Laboratorijske metode

Preiskave fibrinolitičnih parametrov

Koncentracijo antigena t-PA (22) smo določali z encimsko-imunskim testom (ELISA) z dvojnimi protitelesi. Uporabljali smo tovarniško pripravljene reagente (Imulyse-5-t-PA, Biopool, Umea, Švedska). Notranjo površino luknjic na mikrotitrski plošči smo prekrili s protitelesi proti t-PA. V luknjice smo nato odpipetirali vzorce plazme. Metoda je zasnovana na vezavi t-PA iz vzorca plazme na protitelesa. Kompleks protiteles s t-PA smo dokazali z drugimi protitelesi, označenimi s peroksidazo, ki so se vezala na prosta antigena mesta t-PA. Po dodatku substrata za peroksidazo je porast absorpcije pri 405 nm sorazmeren količini t-PA v vzorcu plazme. Koncentracijo t-PA v vzorcu smo odčitali iz umeritvene krivulje, pripravljene s standardnimi raztopinami t-PA.

Aktivnost t-PA (23, 24) smo merili s tovarniško pripravljenim kitom (Spectrolyse/fibrin, Biopool, Umea, Švedska). Krvi, odvzeti v Stabilyte epruvete, smo dodali glu-plazminogen, kromogeni substrat in fibrin. V reakciji je nastal plazmin, ki je hidroliziral kromogeni substrat. Intenzivnost barve, ki se je razvila v določenem času, je bila premosorazmerna količini t-PA v vzorcu plazme. V luknjice mikrotitrške plošče smo dali 200 μl razredčene, nakisane plazme. Dodali smo 200 μl mešanice plazminogena, kromogenega substrata in 10 μl stimulatorja t-PA. Ploščo smo inkubirali pri 37°C 13 ur. Za prekinitev reakcije smo dodali 25 μl Stop/fibrina in nato izmerili absorpciji pri 405 in 492 nm ter izračunali njuno razliko. Rezultate smo odčitali iz umeritvene krivulje, ki smo jo dobili tako, da smo v koordinatni sistem vnesli na ordinato razliko v absorpciji pri 405 in 492 nm, na absciso pa aktivnosti t-PA v standardni plazmi.

Koncentracijo antigena PAI-1 (25) smo določali z encimsko-imunskim testom (ELISA) z dvojnimi protitelesi. Uporabljali smo tovarniško pripravljene reagente (Imulyse PAI-1, Biopool, Umea, Švedska). Vzorce plazme smo dali v luknjice mikrotitrške plošče, prekrite z mišjimi monoklonalnimi protitelesi proti PAI-1. Le-ta so med inkubacijo vezala PAI-1, prisoten v plazmi. Na kompleks smo vezali druga mišja monoklonalna anti PAI-1 protitelesa, označena s peroksidazo. Po dodatku substrata za peroksidazo je bil porast absorpcije pri 492 nm sorazmeren količini PAI-1 v vzorcu. Koncentracijo PAI-1 v vzorcu smo odčitali iz umeritvene krivulje, pripravljene s standardnimi raztopinami PAI-1.

Aktivnost PAI-1 (26) smo določali z metodo, ki temelji na dvostopenjskem postopku. V prvi stopnji smo dodali plazmi t-PA v prebitku in počakali, da reagira s PAI-1 v plazmi. Nato smo plazmo nakisali s 50 μl acetata, da smo inaktivirali a-2-antiplazmin, ki bi sicer motil določanje aktivnosti t-PA. V drugi stopnji smo izmerili preostalo aktivnost t-PA po postopku za določanje aktivnosti t-PA. Aktivnost PAI-1 smo izračunali kot razliko med

aktivnostjo dodanega in preostalega t-PA. Pri tej metodi smo uporabljali enoverižni t-PA, ki poveča specifičnost določanja PAI-1.

Čas evglobulinske lize. Plazmo smo močno razredčili z vodo in nakisali z 1 % očetno kislino. Tako smo oborili evglobulinsko frakcijo, ki vsebuje komponente fibrinolitičnega sistema. Inhibitorji fibrinolize ostanejo v raztopini, zato smo jih odstranili. Evglobuline smo raztopili in koagulirali, nato smo izmerili čas lize strdka (27).

Preiskave hormonov

Koncentracijo estradiola smo določali po metodi Delfia za estradiol (Wallac Oy, Turku, Finska). To je imunofluorescentna metoda, ki temelji na kompeticiji med estradiolom, označenim z evropijem, in estradiolom v vzorcu za zajčja poliklonalna antiestradiolska protitelesa. Estradiol iz vzorca zavira vezavo označenega estradiola na protitelesa. Nato smo dodali še protitelesa proti zajčjim imunoglobulinom, ki so se vezala na komplekse estradiol-zajčje protiteleso. Dodali smo raztopino, ki povzroči disociacijo evropijevih ionov iz označenega estradiola v raztopini. Sproščeni ioni tvorijo fluorescirajoče helate s komponentami te raztopine. Fluorescenca vzorca je obratno sorazmerna koncentraciji estradiola v vzorcu.

Koncentracijo progesterona smo določali po metodi Delfia za progesteron (Wallac Oy, Turku, Finska). Postopek je enak kot za določanje estradiola, le s to razliko, da uporabimo progesteron, označen z evropijem.

Preiskave lipidov

Koncentracijo celotnega holesterola smo določali z encimsko metodo (28). Holesterolne estre v vzorcih in standardu smo hidrolizirali s holesterol esterazo v prosti holesterol in proste maščobne kisline. Nastali prosti holesterol smo oksidirali v prisotnosti kisika. Pri tem je nastajal vodikov peroksid, ki je v prisotnosti katalaze in fenola oksidiral 4-aminofenazon v obarvano spojino. Merili smo njeno absorbnost pri 500 nm. Koncentracijo holesterola smo določali na podlagi razmerja med absorpcijo vzorca in standarda.

Koncentracijo HDL-holesterola smo določali s fosforvolframatom magnezijevo metodo. Najprej smo z obarjalnim reagentom, ki vsebuje raztopino fosforvolframove kisline in magnezijevega klorida, oborili vse apoproteine, ki vsebujejo apoprotein B. Nato smo v supernatantu določili koncentracijo celotnega holesterola z encimsko metodo.

Koncentracijo LDL-holesterola smo določali posredno z izračunom po Friedewaldovi enačbi, pri kateri so koncentracije posameznih lipidov izražene v mmol/l:

$$\text{koncentracija LDL-holesterola} = \text{koncentracija celotnega holesterola} / \text{koncentracija LDL-holesterola} - \text{koncentracija trigliceridov} / 2,2.$$

Koncentracijo trigliceridov smo določali z encimsko metodo (29). Trigliceride v vzorcih in standardu smo z lipazo hidrolizirali v glicerol in proste maščobne kisline. Dobljeni glicerol se je ob prisotnosti ATP in glicerol kinaze pretvoril v glicerol-3-fosfat, le-ta pa se je z glicerol-fosfat-kinazo ob prisotnosti kisika oksidiral v dihidroksiacetonfosfat. Pri tem

je nastal vodikov peroksid. Nadaljnji postopek je bil enak kot za določanje koncentracije celotnega holesterola.

Preiskave ostalih hemostatskih parametrov

Koncentracijo fibrinogena (30) smo določali v koagulacijskem aparatu. Metoda, ki jo je opisal Clauss, temelji na koagulaciji plazme z dodatkom trombina. Čas strjevanja je odvisen predvsem od koncentracije fibrinogena v plazmi.

Statistične metode

Za spremenljivke, ki so se razporejale normalno (koncentracija celotnega holesterola, HDL- in LDL-holesterola in trigliceridov ter krvni tlak), smo kot srednjo vrednost uporabili aritmetično sredino, kot merilo variabilnosti pa standardni odklon. Za ostale spremenljivke, ki se niso razporejale normalno, smo kot srednjo vrednost uporabili mediano, kot merilo variabilnosti pa razpon. Za testiranje razlik med skupinama smo uporabili Mann-Whitneyev U-test. Nihanja vrednosti fibrinolitičnih parametrov med fazami menstruacijskega ciklusa smo testirali s Kruskal-Wallisovim testom za analizo variance. Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket Statistica (StatSoft, ZDA).

Rezultati

Nihanje fibrinolitičnih parametrov med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa

V skupini mladih preiskovank je aktivnost PAI-1 med menstruacijskim ciklusom nihala. Pomemben upad aktivnosti PAI-1 smo izmerili v luteinski fazi v primerjavi s folikularno in ovulacijsko fazo ($p < 0,05$) (tabela 1, tabela 2, slika 1).

Pri mladih preiskovankah smo opazili porast aktivnosti t-PA v luteinski fazi v primerjavi s folikularno in ovulacijsko fazo, vendar le-ta ni bil statistično značilen (tabela 3, slika 2).

Pri mladih preiskovankah ni bilo večjih nihanj v koncentraciji antigena t-PA, antigena PAI-1, času evglobulinske lize (ČEL) in koncentraciji fibrinogena (tabela 4, tabela 6, tabela 7, tabela 8, slika 3, slika 4, slika 6, slika 7).

V skupini predmenopavzalnih preiskovank smo opazili upad plazemske koncentracije antigena PAI-1 v luteinski fazi v primerjavi s folikularno in menstruacijsko fazo, vendar ta upad ni bil statistično značilen (tabela 5, slika 4).

Pri predmenopavzalnih preiskovankah je aktivnost PAI-1 upadla v luteinski fazi, vendar tudi ta upad ni bil statistično značilen (tabela 6, slika 5).

V skupini predmenopavzalnih preiskovank je koncentracija antigena t-PA enakomerno naraščala od folikularne do menstruacijske faze, vendar razlike niso bile statistično pomembne (tabela 4, slika 3).

Pri predmenopavzalnih preiskovankah ni bilo večjih nihanj tudi v aktivnosti t-PA, ČEL in koncentraciji fibrinogena (tabela 3, tabela 7, tabela 8, slika 2, slika 6, slika 7).

V celotni skupini preiskovank med menstruačijskim ciklusom noben parameter ni statistično značilno nihal, opazili smo le manjše spremembe v vrednosti hemostatičnih parametrov (tabela 3, tabela 4, tabela 5, tabela 6, tabela 7, tabela 8).

Merjenje fibrinolitične aktivnosti krvi pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah med menstruačijskim ciklusom

Skupini sta se značilno razlikovali v plazemski koncentraciji antigena t-PA v vseh fazah menstruačijskega ciklusa ($p < 0,01$) (tabela 4, slika 3).

V aktivnosti t-PA sta se skupini značilno razlikovali le v luteinski in menstruačijski fazi ($p < 0,05$). V folikularni in ovulacijski fazi značilnih razlik med skupinama nismo našli (tabela 3, slika 2).

V plazemski koncentraciji antigena PAI-1 sta se skupini značilno razlikovali v vseh fazah menstruačijskega ciklusa razen v luteinski ($p < 0,05$) (tabela 5, slika 4).

V vseh fazah menstruačijskega ciklusa sta se skupini značilno razlikovali v aktivnosti PAI-1 ($p < 0,01$) (tabela 6, slika 5).

V vseh fazah menstruačijskega ciklusa sta se skupini značilno razlikovali tudi v ČEL ($p < 0,01$) (tabela 7, slika 6).

Plazemska koncentracija fibrinogena se med skupinama mladih in predmenopavzalnih preiskovank ni značilno spreminjala (tabela 8, slika 7).

Povezava meritev fibrinolitične aktivnosti krvi s hormoni

V celotni skupini preiskovank ter v skupini mladih je bila povezava med koncentracijo progesterona in fibrinogena v luteinski fazi ($r = 0,42$; $p < 0,05$) (tabela 9).

V luteinski fazi je bila v celotni skupini preiskovank tudi korelacija med koncentracijo progesterona in aktivnostjo t-PA ($r = -0,54$; $p < 0,01$) (tabela 9).

V skupini predmenopavzalnih preiskovank je bila povezava med plazemskima koncentracijama estradiola in antigena PAI-1 v folikularni fazi ($r = 0,59$; $p < 0,05$) (tabela 10) in v luteinski fazi ($r = -0,60$; $p < 0,05$) (tabela 9).

Pri predmenopavzalnih preiskovankah sta bili povezani koncentracija estradiola in aktivnost PAI-1 v luteinski fazi ($r = -0,70$; $p < 0,01$) (tabela 9).

Merjenje koncentracije hormonov med menstruačijskim ciklusom

Med folikularno in luteinsko fazo je pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah značilen porast plazemske koncentracije progesterona in estradiola ($p < 0,01$) (tabela 11, tabela 12).

Tabela 1. Rezultati meritev (mediana in razpon) aktivnosti inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena (IU/ml) v posameznih fazah menstruačijskega ciklusa pri mladih preiskovankah.

Čas odvzema krvi (tedni)			
1.	2.	3.	4.
1,35 (0,0–11,9)	1,1 (0,0–10,2)	0,0 (0,0–11,2)	0,0 (0,0–11,4)

Merjenje telesne teže, plazemskih lipidov in lipoproteinov ter krvnega tlaka

Meritve telesne teže, koncentracije celotnega holesterola, LDL, HDL, trigliceridov in krvnega tlaka so prikazane v tabeli 13. Med mladimi in predmenopavzalnimi preiskovankami smo opazili značilne razlike v BMI, koncentraciji celotnega holesterola, LDL-holesterola in trigliceridov.

Tabela 2. Statistična primerjava vrednosti aktivnosti inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena (IU/ml) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa pri mladih preiskovankah.

p(1./2.)	p(1./3.)	p(1./4.)	p(2./3.)	p(3./4.)
0,7	0,013	0,4	0,015	0,3

Tabela 3. Rezultati meritev (mediana in razpon) aktivnosti tkivnega aktivatorja plazminogena (IU/ml) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$, ** $p < 0,05$ ob primerjavi mladih in predmenopavzalnih preiskovank).

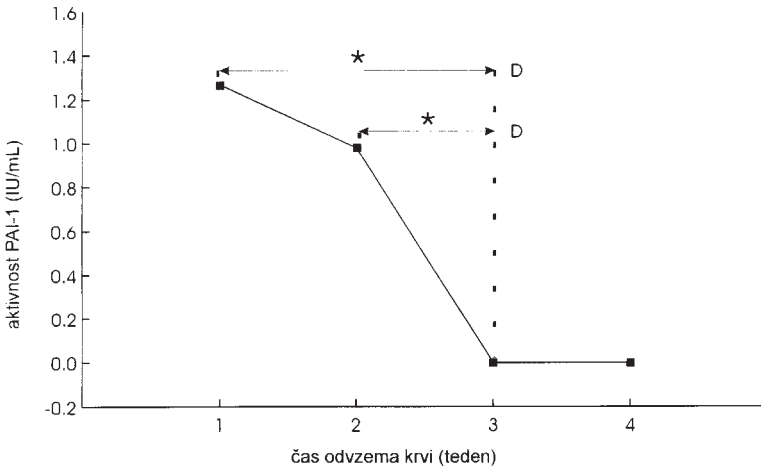
Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	0,78 (0,0–1,56)	0,83 (0,08–1,48)	0,55 (0,0–1,56)
2.	0,83 (0,1–2,46)	0,87 (0,38–2,46)	0,62 (0,1–2,2)
3.	1,02 (0,16–100,0)	1,225 (0,53–1,8)**	0,64 (0,16–100,0)
4.	0,79 (0,0–2,1)	1,04 (0,28–2,1)*	0,505 (0,0–1,6)

Tabela 4. Rezultati meritev (mediana in razpon) plazemske koncentracije antigena tkivnega aktivatorja plazminogena (ng/ml) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$ ob primerjavi mladih in predmenopavzalnih preiskovank).

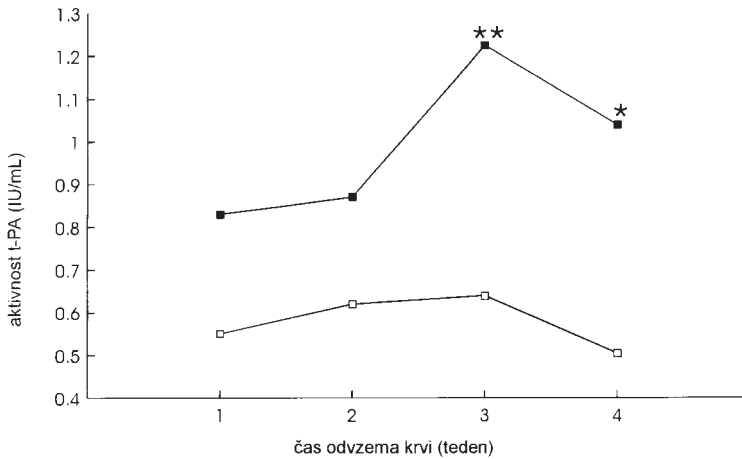
Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	4,9 (2,7–15,2)	4,65 (2,7–6,8)	7,4 (4,3–15,2)*
2.	5,1 (2,8–12,9)	4,6 (2,8–7,3)	8,1 (4,5–12,9)*
3.	4,9 (3,0–22,4)	4,5 (3,0–7,9)	9,2 (4,6–22,4)*
4.	5,1 (2,1–15,4)	4,6 (2,1–8,2)	10,35 (4,8–15,4)*

Tabela 5. Rezultati meritev (mediana in razpon) plazemske koncentracije antigena inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena (ng/ml) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$ ob primerjavi mladih in predmenopavzalnih preiskovank).

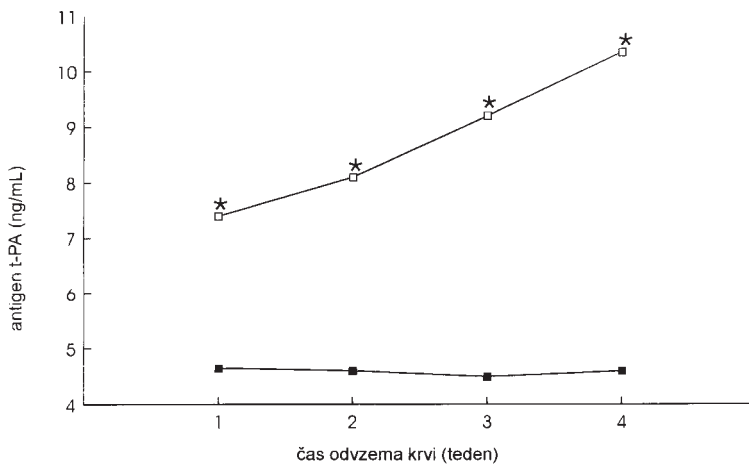
Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	8,3 (3,6–64,7)	7,9 (3,6–14,8)	17,6 (6,1–64,7)*
2.	8,3 (3,0–33,8)	6,8 (3,0–12,2)	11,8 (3,3–33,8)*
3.	7,0 (3,2–60,8)	6,95 (3,2–19,1)	8,2 (5,2–60,8)
4.	9,0 (3,5–51,0)	7,1 (3,5–15,7)	20,8 (5,9–51,0)*



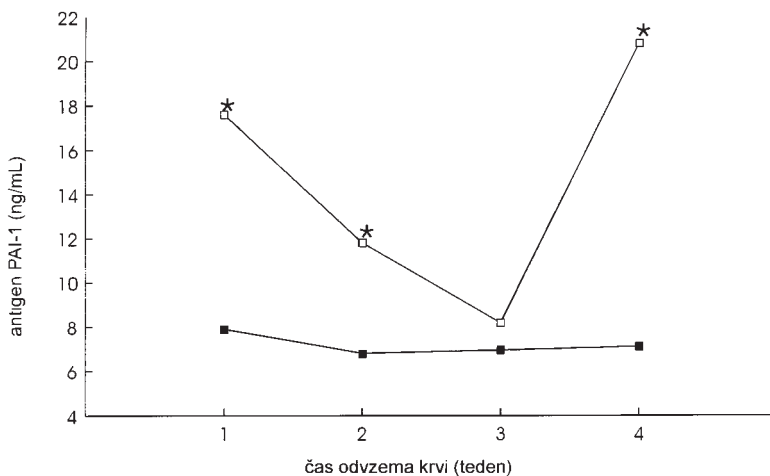
Slika 1. Spreminjanje aktivnosti inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa pri mladih preiskovankah. D – značilne razlike med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa (* $p < 0,05$).



Slika 2. Aktivnost tkivnega aktivatorja plazminogena pri mladih (■) in predmenopavzalnih (□) ženskah v posameznih fazah menstruacijskega ciklusa. V luteinski (tretji odvzem) in menstruacijski (četrti odvzem) fazi je bila razlika med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami značilna (** $p < 0,05$ oziroma * $p < 0,01$).



Slika 3. Koncentracija antigena tkivnega aktivatorja plazminogena pri mladih (■) in predmenopavzalnih (□) ženskah v posameznih fazah menstruacijskega ciklusa. V vseh merjenih obdobjih je bila razlika med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami značilna (* $p < 0,01$).



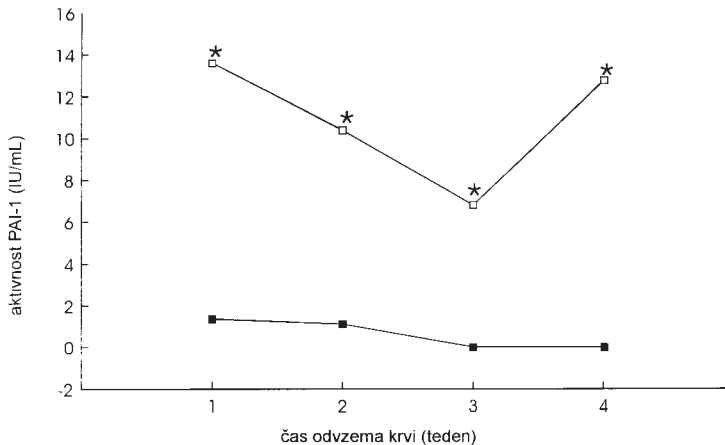
Slika 4. Koncentracija antigena inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena pri mladih (■) in predmenopavzalnih (□) ženskah med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa. V vseh merjenih obdobjih, razen v luteinski fazi (tretji odvzem), je bila razlika med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami značilna (* $p < 0,01$).

Tabela 6. Rezultati meritev (mediana in razpon) aktivnosti inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena (IU/ml) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$ ob primerjavi mladih in predmenopavzalnih preiskovank).

Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	3,8 (0,0–46,6)	1,35 (,0–11,9)	13,6 (4,0–46,6)*
2.	3,0 (0,0–35,4)	1,1 (0,0–10,2)	10,4 (0,0–35,4)*
3.	0,1 (0,0–51,7)	0,0 (0,0–11,2)	6,8 (0,0–51,7)*
4.	1,3 (0,0–49,7)	0,0 (0,0–11,4)	12,75 (0,0–49,7)*

Tabela 7. Rezultati meritev (mediana in razpon) časa evglobulinske lize (min) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$ ob primerjavi mladih in predmenopavzalnih preiskovank).

Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	203,0 (120,0–395,0)	188,5 (120,0–305,0)	325,0 (250,0–395,0)*
2.	197,0 (115,0–410,0)	179,0 (115,0–380,0)	360,0 (160,0–410,0)*
3.	215,0 (115,0–423,0)	171,0 (115,0–360,0)	375,0 (250,0–423,0)*
4.	240,0 (122,0–430,0)	167,0 (122,0–360,0)	352,5 (250,0–430,0)*



Slika 5. Aktivnost inhibitorja tkivnega aktivatorja plazminogena pri mladih (■) in predmenopavzalnih (□) ženskah med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa. V vseh merjenih obdobjih je bila razlika med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami značilna (* $p < 0,01$).

Tabela 8. Rezultati meritev (mediana in razpon) plazemske koncentracije fibrinogena (g/l) med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah.

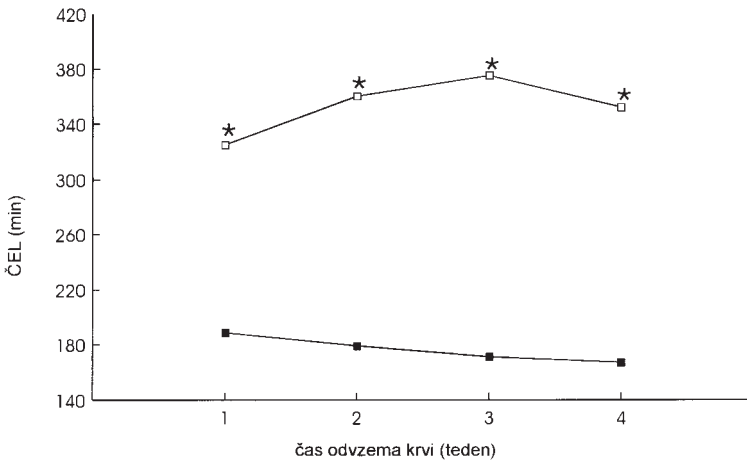
Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	2,56 (1,86–3,75)	2,56 (1,86–3,75)	2,7 (2,31–3,48)
2.	2,56 (1,79–3,75)	2,495 (1,79–3,48)	2,56 (2,11–3,75)
3.	2,56 (1,86–3,75)	2,495 (1,86–3,75)	2,86 (2,31–3,75)
4.	2,56 (1,86–4,07)	2,56 (1,86–3,75)	2,7 (2,02–4,07)

Tabela 9. Korelacijski koeficient (r) za povezave med koncentracijami progesterona in estradiola v luteinski fazi ter plazemsko koncentracijo fibrinogena, koncentracijo antigena tkivnega aktivatorja plazminogena (t-PA), aktivnostjo t-PA, koncentracijo inhibitorja t-PA (PAI-1), aktivnostjo PAI-1 in časom evoglobulinske lize v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$).

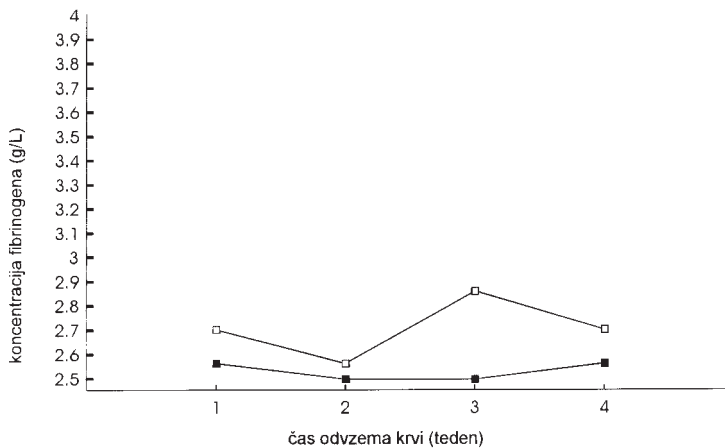
	Mlade	Estradiol Predmeno-pavzalne	Skupaj	Mlade	Progesteron Predmeno-pavzalne	Skupaj
Fibrinogen	0,28	0,25	0,24	0,54**	0,17	0,42*
Antigen t-PA	-0,33	-0,31	-0,11	-0,31	-0,28	0,07
Aktivnost t-PA	-0,26	0,07	-0,2	-0,34	-0,4	-0,54**
Antigen PAI	-0,06	-0,6*	-0,16	-0,18	-0,25	-0,06
Aktivnost PAI	-0,29	-0,7**	-0,13	0,09	-0,1	0,33
ČEL	-0,02	-0,51	0,003	-0,09	0,01	0,33

Tabela 10. Korelacijski koeficient (r) za povezave med koncentracijami progesterona in estradiola v folikularni fazi ter plazemsko koncentracijo fibrinogena, koncentracijo antigena tkivnega aktivatorja plazminogena (t-PA), aktivnostjo t-PA, koncentracijo inhibitorja t-PA (PAI-1), aktivnostjo PAI-1 in časom evoglobulinske lize v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,05$).

	Mlade	Estradiol Predmeno-pavzalne	Skupaj	Mlade	Progesteron Predmeno-pavzalne	Skupaj
Fibrinogen	0,07	0,53	0,23	-0,21	0,28	0,0
Antigen t-PA	0,04	0,34	0,32	0,007	0,02	0,22
Aktivnost t-PA	0,04	0,07	0,09	-0,2	0,27	-0,04
Antigen PAI	-0,23	0,59*	0,2	0,35	0,05	0,31
Aktivnost PAI	-0,15	0,46	0,26	0,1	-0,07	0,3
ČEL	-0,42	0,26		0,28	-0,21	



Slika 6. Čas evoglobulinske lize pri mladih (■) in predmenopavzalnih (□) ženskah v posameznih fazah menstruacijskega ciklusa. V vseh merjenih obdobjih je bila razlika med mladimi in predmenopavzalnimi ženskami značilna (* $p < 0,01$).



Slika 7. Plazemska koncentracija fibrinogena pri mladih (■) in predmenopavzalnih (□) ženskah.

Tabela 11. Plazemska koncentracija estradiola (nmol/l) v prvi in tretji fazi menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$ ob primerjavi vrednosti estradiola v prvi in tretji fazi menstruacijskega ciklusa).

Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	0,18 (0,09–0,44)	0,18 (0,09–0,44)	0,27 (0,09–0,42)
3.	0,35 (0,18–1,55)	0,325 (0,18–0,62)	0,35 (0,24–1,55)

Tabela 12. Plazemska koncentracija progesterona (nmol/l) v prvi in tretji fazi menstruacijskega ciklusa v celotni skupini, pri mladih in predmenopavzalnih preiskovankah (* $p < 0,01$ ob primerjavi vrednosti progesterona v prvi in tretji fazi menstruacijskega ciklusa).

Čas odvzema krvi (teden)	Skupaj	Mlade	Predmenopavzalne
1.	2,8 (1,4–4,77)	2,75 (1,4–3,77)	3,1 (1,7–4,77)
3.	21,5 (1,7–80,1)	10,65 (1,7–80,1)	39,7 (9,9–48,7)

Tabela 13. Rezultati meritev (aritmetična sredina \pm standardna deviacija) (* $p < 0,01$ ob primerjavi mladih in predmenopavzalnih preiskovank).

Parametri	Enote	Vrednost
BMI	kg/m ²	22,5 \pm 3,56
Celotni holesterol	mmol/L	5,3 \pm 1,12
HDL-holesterol	mmol/L	1,56 \pm 0,42
LDL-holesterol	mmol/L	3,33 \pm 1,14
Trigliceridi	mmol/L	0,8 \pm 0,42
Krvni tlak	mm Hg	122,5 \pm 10 / 80 \pm 7,2

Razprava

Vpliv menstruacijskega ciklusa na fibrinolitično aktivnost krvi

Morebitni vpliv spreminjanja koncentracije hormonov med menstruacijskim ciklusom na fibrinolitični encimski sistem je pomanjkljivo raziskan. V starejših raziskavah, ki so uporabljale nespecifične metode za določanje fibrinolitične aktivnosti krvi, niso odkrili pomembnih sprememb med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa (9). V naši raziskavi smo poskušali s specifičnimi metodami za določanje aktivnosti t-PA, plazemske koncentracije t-PA, aktivnosti PAI-1 in koncentracije PAI-1 ugotoviti, ali obstajajo nihanja vrednosti fibrinolitičnih parametrov med menstruacijskim ciklusom.

Pri mladih preiskovankah smo ugotovili nihanje aktivnosti PAI-1, ki se je značilno zmanjšala ($p < 0,05$) v luteinski fazi (tabela 1, tabela 2, slika 1), ko smo zasledili tudi porast

koncentracije estradiola in progesterona (tabela 11, tabela 12). V istem obdobju smo ugotovili tudi porast aktivnosti t-PA, vendar le-ta ni bila statistično pomembna (tabela 3, slika 2). Pri tem je potrebno poudariti, da se koncentraciji antigena t-PA in PAI-1 nista značilno spreminjali. Skladno z rezultati drugih raziskovalcev tudi mi nismo našli sprememb v ČEL (tabela 4, tabela 5, tabela 7, slika 3, slika 4, slika 6).

Pri predmenopavzalnih preiskovankah pri nobenem od preiskovanih parametrov nismo izmerili statistično značilnih razlik med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa (tabela 3, tabela 4, tabela 5, tabela 6, tabela 7, tabela 8, slika 2, slika 3, slika 4, slika 5, slika 6, slika 7).

V pregledani literaturi informacijskega sistema Medline od januarja 1989 do junija 1993 nismo našli podatkov, s katerimi bi primerjali dobljene rezultate. Delna primerjava je možna le z dvema raziskavama. Klufft in Jespersen sta v raziskavi, ki je zajela 15 žensk, starih od 20 do 28 let, ugotovila, da med menstruacijskim ciklusom ni sprememb v inhibiciji t-PA, merjeni z amidolitično metodo (10). Siegbahn in sodelavci so vključili v raziskavo 13 žensk, pri katerih so po venskem zažemu ocenjevali fibrinolitično aktivnost krvi. Skladno z našimi rezultati so ugotovili upad fibrinolitične aktivnosti krvi v luteinski fazi. V več raziskavah so opazovali spreminjanje fibrinolitičnih parametrov med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa pri ženskah, ki uporabljajo oralne kontraceptive. Pri njih so opazili izrazitejša nihanja fibrinolitičnih parametrov kot pri ženskah s fiziološkim menstruacijskim ciklusom (9). Iz tega lahko sklepamo, da imajo hormoni določen vpliv na nihanja fibrinolitičnih parametrov med menstruacijskim ciklusom.

Tudi raziskave, ki so bile usmerjene v proučevanje spreminjanja vrednosti koagulacijskih faktorjev in antitrombina III, niso odkrile pomembnih razlik med posameznimi fazami menstruacijskega ciklusa (4, 8, 12, 13, 20). Proučevanje plazemskih koncentracij celotnega holesterola, trigliceridov, LDL in HDL ni pokazalo sprememb med menstruacijskim ciklusom (4, 8, 20). Od fizikalnih lastnosti se je pomembno spreminjala le viskoznost krvi, ki se je povečala med folikularno in ovulacijsko fazo (20).

Opazili smo tudi spreminjanje koncentracije fibrinogena med menstruacijskim ciklusom. V nobeni izmed skupin nismo našli statistično pomembnih nihanj tega hemostatskega parametra (tabela 8, slika 7). Rezultate smo primerjali z meritvami drugih avtorjev, ki pa niso enotne. Medtem ko so nekateri opisali povečanje koncentracije fibrinogena v luteinski fazi (4), zasledimo tudi poročila o povečanju koncentracije fibrinogena v folikularni in ovulacijski fazi (12).

Vpliv predmenopavzalnega obdobja na fibrinolitično aktivnost krvi med menstruacijskim ciklusom

V raziskavi smo primerjali fibrinolitični aktivnosti krvi mladih in predmenopavzalnih preiskovank. Odkrili smo značilne razlike ($p < 0,05$) med koncentracijama in aktivnostima t-PA, koncentracijama in aktivnostima PAI-1 ter ČEL (tabela 3, tabela 4, tabela 5, tabela 6, tabela 7, slika 2, slika 3, slika 4, slika 5, slika 6). Med plazemskima koncentracijama fibrinogena statistično pomembnih razlik nismo našli (tabela 8, slika 7). S tem smo po-

trdili že znana dejstva, da se koncentraciji antigena t-PA in PAI-1 s starostjo povečujeta (31). Pri predmenopavzalnih ženskah smo v primerjavi z mladimi ugotovili povečano aktivnost PAI-1 in upad aktivnosti t-PA, za kateri so bili do sedaj mnenja, da se s starostjo ne spreminjata (31).

Zanimale so nas morebitne povezave med vrednostmi fibrinolitičnih parametrov in spremembami koncentracije estradiola in progesterona med menstruacijskim ciklusom. V celotni skupini in pri mladih preiskovankah smo našli v luteinski fazi povezavo med plazemsko koncentracijo progesterona in fibrinogena (tabela 9). Do podobnih rezultatov je prišla tudi Lebechova s sodelavci, ki je v raziskavo vključila ženske do 30 let (8).

Pri predmenopavzalnih preiskovankah je bil značilen porast koncentracije estradiola v luteinski fazi povezan z upadom koncentracije antigena PAI-1 (tabela 9, $r = -0,6$, $p < 0,05$) in z upadom aktivnosti PAI-1 (tabela 9, $r = -0,7$, $p < 0,01$). Dosedanje raziskave so pri postmenopavzalnih ženskah, ki so jih nadomestno hormonsko zdravili z estradiolom, odkrile, da se je zmanjšala koncentracija antigena in aktivnost PAI-1 (32). Nedavno so pri mladih preiskovankah, ki uporabljajo oralne kontraceptive, opisali zmanjšano koncentracijo antigena PAI-1 in zmanjšano aktivnost PAI-1. Te spremembe so pripisali estradiolu (11). Pri mladih preiskovankah v luteinski fazi sicer nismo našli povezanosti med koncentracijo estradiola in vrednostmi PAI-1 (tabela 9). Zmanjšanje aktivnosti PAI-1 v luteinski fazi, torej v obdobju, ko je koncentracija estradiola povečana, pa nas kljub temu opozarja na možno povezavo med koncentracijo estradiola in aktivnostjo PAI-1. To bi lahko pomenilo, da je pri starejših preiskovankah, ko sta koncentracija antigena in aktivnost PAI-1 že zaradi starosti povečani, pomen estradiola pri ustvarjanju ugodnejšega fibrinolitičnega stanja še toliko večji. Lahko pa bi se te razlike med mladimi in predmenopavzalnimi preiskovankami pojavile zaradi različne regulacije v posameznih starostnih obdobjih.

Pri vseh preiskovankah smo v luteinski fazi ugotovili povezavo med porastom koncentracije progesterona in povečano aktivnostjo t-PA (tabela 9, $r = -0,54$, $p < 0,01$). To kaže na možen varovalni pomen progesterona.

Na fibrinolitično aktivnost krvi vpliva način življenja: prehrana, ritem budnost – spanje, stres, kajenje in telesna aktivnost (16). Kot je navedeno že v opisu preiskovank, smo v raziskavo vključili zdrave prostovoljke, med katerimi ni bilo izrazitih odstopanj v življenjskih navadah. Pomemben vpliv na fibrinolitični encimski sistem ima tudi močno povečana telesna teža (16). Pri debelih ljudeh so našli povišane vrednosti PAI-1 (33). Nobena od naših preiskovank sicer ni bila debela ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$), čeprav so imele predmenopavzalne preiskovanke značilno večji BMI kot mlade (tabela 13).

Na vrednosti fibrinolitičnih parametrov pomembno vplivajo tudi nekatera bolezenska stanja, kot sta sladkorna bolezen in povišan krvni tlak. Neodzivnost perifernih tkiv na inzulin pri sladkorni bolezni tipa II povzroči povečanje aktivnosti PAI-1 (17). Pri preiskovankah s povišanim krvnim tlakom pa so ugotovili povišano koncentracijo antigena PAI-1 in podaljšan ČEL (34).

Znano je, da zvišane koncentracije plazemskih lipidov, predvsem trigliceridov, vplivajo na PAI-1. Našli so povezanost med koncentracijama antigena PAI-1 in trigliceridov (16). Koncentracija trigliceridov je bila značilno različna pri mladih in predmenopavzalnih ženskah, vendar je bila pri obojih v mejah normale (tabela 13).

Ker predmenopavzalne preiskovanke v času raziskave niso spreminjale življenjskih navad, niti niso bile izpostavljene okoliščinam, ki bi utegnile spreminjati fibrinolitično aktivnost krvi, predpostavljamo, da je upad koncentracije antigena in aktivnosti antigena PAI-1 v luteinski fazi posledica povečane koncentracije estradiola v tej fazi menstruacijskega ciklusa. Te ugotovitve bi lahko kazale na to, da imajo že fiziološke hormonske spremembe med menstruacijskim ciklusom pri predmenopavzalnih ženskah pomemben vpliv na fibrinolitično aktivnost krvi.

Sklepi

Na osnovi pričujočega dela lahko odgovorimo na vprašanja, ki smo si jih zastavili:

- pri mladih preiskovankah je med posameznimi fazami normalnega menstruacijskega ciklusa pomembno nihala le aktivnost PAI-1. Ostali fibrinolitični parametri so sicer nihali, vendar ta nihanja niso bila statistično pomembna. Kljub vsemu bi bilo, z ozirom na ugotovljene spremembe v fibrinolitični aktivnosti krvi med menstruacijskim ciklusom, ustrezno standardizirati dan odvzema krvi za raziskave fibrinolitične aktivnosti krvi glede na obdobje menstruacijskega ciklusa;
- med mladimi in predmenopavzalnimi preiskovankami obstajajo statistično pomembne razlike v aktivnosti t-PA, koncentraciji antigena t-PA, aktivnosti PAI-1, koncentraciji antigena PAI-1 in ČEL. Pri predmenopavzalnih preiskovankah smo ugotovili upad koncentracije antigena in aktivnosti PAI-1 v luteinski fazi, kar kaže na možen varovalni vpliv estradiola.

Zahvala

Najini mentorici doc. dr. Poloni Peternel se zahvaljujema za strokovno pomoč in vodenje pri nastajanju naloge.

Ing. Marinki Tehovnik in ostalim v laboratoriju se zahvaljujema za natančno opravljene laboratorijske analize.

Višji medicinski sestri Brigiti Valentinič hvala za pomoč pri delu s preiskovankami.

Ing. Žarki Žemva in njenim sodelavcem na Kliniki za nuklearno medicino hvala za prijaznost in hitro opravljene laboratorijske analize.

Dr. Alenki Mavri se še posebej zahvaljujema za pomoč pri statistični obdelavi podatkov. Vsem preiskovankam se želiva zahvaliti za njihovo sodelovanje.

Tadeji hvala, ker je odpravljala najine slovnične napake.

Roku se zahvaljujema za pomoč pri računalniškem oblikovanju naloge.

Literatura

1. Lee AJ, Lowe GDO, Smith WCS, Tunstall-Pedoe H. Plasma fibrinogen in women: relationships with oral contraception, the menopause and hormone replacement therapy. *Br J Haematol* 1993; 83: 616–21.
2. Kocijančič A, Mrevlje F, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1993: 145–6.
3. Colditz GA, Willet WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speitzer F, Hannekens CH. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1987; 316: 1105–10.
4. Lebech AM, Kjoer A. Lipid metabolism and coagulation during the normal menstrual cycle. *Horm Metab Res* 1989; 21: 445–8.
5. Stampfer MJ, Colditz GA, Willet WC, Speizer FE, Hannekens CH. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten year follow up from the Nurses' Health Study. *N Engl J Med* 1991; 325: 756–62.
6. Nordby G, Haaland A, Os I. Evidence of decreased fibrinolytic activity in hypertensive premenopausal women. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 275–81.
7. Lebech AM, Kjoer A, Lebech PE. Metabolic changes during the normal menstrual cycle: A longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 414–6.
8. Meilahn EN. Hemostatic factors and risk of cardiovascular disease in women. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 1313–7.
9. Jespersen J. Pathophysiology and clinical aspects of fibrinolysis and inhibition of coagulation. *Dan Med Bull* 1988; 35: 1–33.
10. Jespersen J, Kluff C. Inhibition of tissue-type plasminogen activator in plasma of women using oral contraceptives and in normal women during a menstrual cycle. *Thromb Haemost* 1986; 55: 388–9.
11. Quehenberger P, Kapiotis S, Paertan C, Schneider B, Wenzel R, Gaiger A, Speiser W. Studies on oral contraceptive-induced changes in blood coagulation and fibrinolysis and the estrogen effect on endothelial cells. *Ann Hematol* 1993; 67: 33–6.
12. Solerte SB, Fioravanti M, Spinillo A, Ferrari E, Guaschino S. Association between hormonal and haemorrhological changes during the menstrual cycle in healthy women. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95: 1305–8.
13. Jespersen J, Ingeberg S, Bach E. Antithrombin III and platelets during the normal menstrual cycle and in women receiving oral contraceptives low in oestrogen. *Gynecol Obstet Invest* 1983; 15: 153–62.
14. Agnelli G. *Thrombolysis yearbook 1993*. Amsterdam: Excerpta Medica 1993: 26.
15. Collen D. On the regulation and control of fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1980; 43: 77–89.
16. Nilsson TK, Boman K, Jansson JH. *Clinical aspects of fibrinolysis*. Stockholm: Almqvist & Wiksell International 1991: 28.
17. Stump DC, Thienpont M, Collen. Purification and characterisation of a novel inhibitor of urokinase from humane urine. *J Biol Chem* 1986; 261: 127599–66.
18. Baker JB, Gronke RS. Protease nexins and cellular regulation. *Semin Thromb Haemost* 1986; 12: 216–9.
19. Kocijančič A. *Endokrinologija*. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1987: 261–2.
20. Solerte SB, Fioravanti M, Magri F, Spinillo A, Guaschino S, Ferrari E. Influence des hormones sexuelles sur l'hémorhéologie et les protéines plasmatiques au cours du cycle menstruel. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1991; 86: 139–42.
21. Siegbahn A, Odland V, Hedner U, Venge P. Coagulation and fibrinolysis during the normal menstrual cycle. *Ups J Med Sci* 1989; 94: 137–52.
22. Ranby M, Bergsdorf N, Nilsson T, Melbring G, Winblad B, Blucht G. Age dependence of tissue plasminogen activator concentrations in plasma studied by an improved linked immunosorbent assay. *Clin Chem* 1986; 32: 2160–5.
23. Ranby M, Norrman B, Wallen. A sensitive assay for tissue plasminogen activator. *Thromb Res* 1982; 27: 743–9.
24. Wiman B, Mellbring G, Ranby M. Plasminogen activator release during venous occlusion stasis and exercise as determined by a new specific assay. *Clin Chim Acta* 1983; 127: 270–88.
25. Declercq PJ, Alessi MC, Verstrecken M, Kruitkof EKO, Juhan-Vague I, Collen D. Measurement of plasminogen activator inhibitor 1 in biologic fluids with a murine monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood* 1988; 71: 220–5.
26. Chmielewska J, Ranby M, Wiman B. Evidence of rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb Res* 1983; 31: 427–36.

27. Buckell M. The effect of citrate on euglobulin methods of estimating fibrinolytic activity. *J Clin Pathol* 1959; 11: 403.
28. Elefson RD, Caraway WT. PAP method for cholesterol assesment. In Tietz N ed. *Fundamentals of chlinical chemistry*. Philadelphia: Saunders 1976: 507.
29. Fredrickson DS, Levy RT, Lees RS. Triglycerides. *N Engl J Med* 1967; 34: 275.
30. Clauss A. Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol* 1957; 17: 237–46.
31. Stegnar M, Pentek M. Fibrinolytic response to venous occlusion in healthy subjects: relationship to age, gender, body weight, blood lipids and insulin. *Thromb Res* 1993; 69: 81–92.
32. Scarabin PY, Plu-Bureau G, Bara L, Bonithon-Kopp C, Guize L, Samama MM. Haemostatic variables and menopausal status: influence of hormone replacement therapy. *Thromb Haemost* 1993; 70: 584–7.
33. Vague P, Juhan-Vague I, Chabert V, Alessi MC, Atlan C. Fat distribution and plasminogen activator inhibitor activity in nondiabetic obese women. *Metabolism* 1989; 38: 913–5.
34. Refn H, Kjaer A, Lebech AM, Borggaard B, Schierup L, Bremmelgaard A. Metabolic changes during treatement with two different progestogens. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 374–7.
35. Adamič Š. *Temelji biostatistike*. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 1989.

Prispelo 20.9.1995