

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΡΑΛΟΞΙΦΑΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΤΩΝ**  
**ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**  
**ΜΑΙΕΥΤΗΡΑ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΥ**  
**ΑΝΤΩΝΗ Α. ΓΚΑΡΑ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2004**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**  
**ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 7820/1  
Ημερ. Εισ.: 26-11-2009  
Δωρεά: Π.Θ.  
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ  
618.175 061  
ΓΚΑ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083832

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΡΑΛΟΞΙΦΑΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΤΩΝ  
ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΜΑΙΕΥΤΗΡΑ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΥ**

**ΑΝΤΩΝΗ Α. ΓΚΑΡΑ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2004**

### **Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή**

Ιωάννης Ε. Μεσσήνης, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας.

Νικόλαος Βαμβακόπουλος, Καθηγητής Βιολογίας.

Αθανάσιος Καλλιτσάρης, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας.

### **Επταμελής εξεταστική επιτροπή.**

Ιωάννης Ε. Μεσσήνης, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας.

Γεώργιος Αντωνακόπουλος, Καθηγητής Ιστολογίας, Εμβρυολογίας, Ανατομίας.

Νικόλαος Βαμβακόπουλος, Καθηγητής Βιολογίας.

Αντώνιος Καραβέλης, Καθηγητής Νευροχειρουργικής.

Αθανάσιος Καλλιτσάρης, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας.

Νικόλαος Σκεντέρης, Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής.

Γεώργιος Κουκούλης, Επίκουρος Καθηγητής Ενδοκρινολογίας.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πολλά ήταν τα άτομα που συνέβαλλαν στην ολοκλήρωση αυτής της διδακτορικής διατριβής και θα ήθελα να ευχαριστήσω.

Πρωτίστως τον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κ. Ιωάννη Ε. Μεσσίνη που με εμπιστεύθηκε και μου ανέθεσε την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής. Από την ανάθεση του θέματος της διδακτορικής διατριβής μέχρι και τη συγγραφή της, η συμπαράστασή του ήταν άμεση και αμέριστη και οι συμβουλές του ανεκτίμητες. Η ολοκλήρωσή της θα ήταν αδύνατη χωρίς τις πολύτιμες παρεμβάσεις του και την αδιάλειπτη επίβλεψη του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα άλλα δύο μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής τον Καθηγητή Βιολογίας κ. Βαμβακόπουλο Νικόλαο και τον Επίκουρο Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας κ. Καλλιτσάρη Αθανάσιο, οι οποίοι με συμβούλεψαν με ενδιαφέρον όποτε χρειάστηκε.

Ευχαριστώ επίσης τον Επίκουρο Καθηγητή Ιατρικής Στατιστικής του Πανεπιστημίου Θράκης, κ. Τρυσιάνη Γρηγόριο, η βοήθεια του οποίου στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων ήταν σημαντικότερη.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον κ. Κολιό Γεώργιο, του Βιοχημικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, ο οποίος έκανε όλες τις ορμονικές μετρήσεις των δειγμάτων αίματος που ελήφθησαν.

Τέλος θέλω να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στις 16 γυναίκες που συμμετείχαν στην μελέτη αυτή, οι οποίες πάντοτε με πολύ καλή διάθεση προσέρχονταν στα Κέντρα Υγείας ή στο Γενικό Νοσοκομείο του Νομού Λάρισας τις προβλεπόμενες ώρες και των οποίων η συμμόρφωση ως προς τη λήψη των φαρμάκων σύμφωνα με το πρωτόκολλο ήταν άριστη.

Στους γονείς μου,  
Αποστόλη και Μαίρη.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

### ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή	σελ 3
SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators)	σελ 7
Μηχανισμοί δράσης των SERMs	σελ 9
Μοριακή βάση του διακριτού βιοχημακτήρα των SERMs	σελ 11
Α) γενικό μοντέλο	σελ 11
Β) τροποποιημένο μοντέλο	σελ 12
Το κλινικό φάσμα των SERMs	σελ 17
(Δράση στα διάφορα συστήματα)	σελ 17
1) επιδράσεις στο μαστό	σελ 17
2) επιδράσεις στο αναπαραγωγικό σύστημα	σελ 20
3) επιδράσεις στις νοητικές λειτουργίες	σελ 26
4) επιδράσεις στα οστά	σελ 29
5) επιδράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα	σελ 30
6) επιδράσεις στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα	σελ 31

### ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Υλικό και μέθοδοι	σελ 42
Δημογραφικά χαρακτηριστικά	σελ 43
Συμμόρφωση –Παρενέργειες	σελ 44
Μετρήσεις ορμονών	σελ 46
Στατιστική ανάλυση	σελ 46

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Μελέτη των βασικών τιμών των ορμονών LH, FSH, PRL

και E2 στην Ομάδα A	σελ 48
2. Σύγκριση των μεταβολών των βασικών επιπέδων της LH και της FSH στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα της R-Exp και CI-Exp στην Ομάδα A	σελ 55
3. Μελέτη των βασικών τιμών των ορμονών LH, FSH, PRL και E2 στην Ομάδα B	σελ 56
4. Σύγκριση των μεταβολών των βασικών επιπέδων της LH και της FSH στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα της R-Exp και CI-Exp στην Ομάδα B	σελ 64
5. Μελέτη της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη (AUC), της συνολικής έκλυσης (total values) και της μέγιστης τιμής (peak values) των LH και FSH και στις δύο Ομάδες (A και B)	σελ 64
Ομάδα A	σελ 65
Ομάδα B	σελ 69
6. Μελέτη της διακύμανσης των επιπέδων της LH και της FSH κατά τις χρονικές στιγμές αιμοληψίας μετά τη χορήγηση GnRH	σελ 76
Ομάδα A	σελ 76
Ομάδα B	σελ 85

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

A. Βασικές τιμές των ορμονών LH, FSH και PRL	σελ 96
B. Υποφυσιακή απάντηση στη GnRH	σελ 107
Συμπεράσματα	σελ 112
Περίληψη	σελ 114
Summary	σελ 118
References	σελ 120





## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα οιστρογόνα αποτελούν μία από τις σημαντικότερες ορμόνες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας τα οιστρογόνα είναι οι κύριοι ρυθμιστές της έκκρισης των γοναδοτροπινών. Στις γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση τα επίπεδα των ενδογενών οιστρογόνων είναι σημαντικά μειωμένα σε σχέση με αυτά της αναπαραγωγικής περιόδου και κατά συνέπεια και ο ρόλος τους είναι περιορισμένος. Ωστόσο όταν χορηγούνται εξωγενώς, μπορούν να τροποποιήσουν τα επίπεδα των γοναδοτροπινών στο αίμα.

Τα οιστρογόνα είναι ένα από τα πιο συχνά συνταγογραφούμενα φάρμακα και αποτελούν επί του παρόντος την πιο αποτελεσματική θεραπεία των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων, όπως είναι οι εξάψεις, το αίσθημα θερμότητας και οι ατροφικές αλλοιώσεις του ουρογεννητικού σωλήνα. Αποτελούν επίσης μία από τις θεραπείες εκλογής για την πρόληψη και θεραπεία της οστεοπόρωσης και ασκούν μία πολυσυστηματική δράση, συμπεριλαμβανομένης μίας πιθανής ευεργετικής δράσης κατά της αθηρωματικής νόσου, μέσω μηχανισμών που οδηγούν στη μείωση των επιπέδων των κυκλοφορούντων λιπιδίων του αίματος. Σταδιακά αρχίζουν να συγκεντρώνονται δεδομένα από διάφορες μελέτες, τα οποία συνηγορούν υπέρ μίας ευεργετικής δράσης των οιστρογόνων στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Πιθανώς να μειώνουν την επίπτωση και τη σοβαρότητα της άνοιας των ασθενών που πάσχουν από νόσο του Alzheimer και να βοηθούν στη διατήρηση των νοητικών λειτουργιών στις υγιείς εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Yaffe et al.,2001, Tang M-X., 1996) .

Αυτές οι δράσεις των οιστρογόνων ασκούνται μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων. Σήμερα είναι γνωστοί δύο οιστρογονικοί υποδοχείς, που

ονομάζονται, ανάλογα και με τη σειρά με την οποία ανακαλύφθηκαν, -α και -β (ER-α και ER-β) και υπάγονται και οι δύο στους πυρηνικούς υποδοχείς.

Επειδή οι δύο οιστρογονικοί υποδοχείς είναι πιθανό, να έχουν διαφορετική βιολογική δράση και επειδή ο υποδοχέας -α και ο υποδοχέας -β σχηματίζουν μεταξύ τους ετεροδιμερή επηρεάζοντας ο ένας την δράση του άλλου (Pettersson et al., 1997) είναι σημαντικό να προσδιορίζεται η έκφραση των δύο υποδοχέων σε συγκεκριμένους ιστούς-στόχους.

Στον εγκέφαλο και πιο συγκεκριμένα στην υπόφυση, οι οιστρογονικοί υποδοχείς -α εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στα γαλακτοτρόπα κύτταρα, σε χαμηλότερα επίπεδα στα γοναδοτρόπα κύτταρα και σε χαμηλά επίπεδα στα άλλα είδη των κυττάρων (Shupnik et al. 2002). Στον άνθρωπο ο οιστρογονικός υποδοχέας -α δεν εκφράζεται καθόλου στα κύτταρα που παράγουν την αυξητική ορμόνη, ενώ στα κύτταρα που παράγουν την ACTH και την TSH δεν εκφράζεται πάντα. Στους αρουραίους η έκφραση του οιστρογονικού υποδοχέα -α είναι πιο διάχυτα υπαρκτή (Friend et al., 1994, Mitchner et al., 1998).

Σε ό,τι αφορά τον οιστρογονικό υποδοχέα -β στην ανθρώπινη υπόφυση, εκφράζεται στα σωματοτρόπα και στα κορτικοτρόπα κύτταρα. Ο οιστρογονικός υποδοχέας -β είναι ο μόνος που εκφράζεται σε αυτά τα δύο είδη των κυττάρων της υπόφυσης και αυτό ίσως να εξηγεί μερικές άμεσες δράσεις των οιστρογόνων στην έκκριση της ACTH και της GH (Chaidarum et al., 1998, Shupnik et al., 2001).

Οι Shughue et al. (1997) μελέτησαν την παρουσία του mRNA των οιστρογονικών υποδοχέων -α και -β στο κεντρικό νευρικό σύστημα των αρουραίων. Κατέληξαν στο συμπέρασμα πως οι νευρώνες του οσφρητικού βολβού, του υπεροπτικού πυρήνα, του παρακοιλιακού πυρήνα, του υπερχιασματικού πυρήνα, της παρεγκεφαλίδας και του κωναρίου, περιέχουν αποκλειστικά mRNA του οιστρογονικού υποδοχέα -β. Αντίστοιχα, υπάρχουν

περιοχές οι οποίες περιέχουν αποκλειστικά mRNA του οιστρογονικού υποδοχέα -α, ενώ άλλες περιοχές του εγκεφάλου, όπως είναι η προοπτική και ο παραβραχιακός πυρήνας, περιέχουν mRNA και των δύο υποδοχέων.

Ωστόσο, πέρα από την κλασσική οδό δράσης των οιστρογόνων μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων, τα τελευταία χρόνια δημοσιεύονται όλο και περισσότερες μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν έναν άλλο μηχανισμό δράσης των οιστρογόνων, στον οποίο δεν συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς -α και -β, του κυτταρικού πυρήνα. Οι Tesarik et al. (1995) κατέδειξαν, πως η 17-β οιστραδιόλη ασκεί μία άμεση δράση στο ωριμάζον ανθρώπινο ωοκύτταρο, προκαλώντας παροδικές αυξήσεις στη συγκέντρωση του ενδοκυττάριου ελεύθερου Ca, με μηχανισμό στον οποίο δεν συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς. Επιπλέον, οι Milner et al. (2001) με μελέτες υπερδομής κατέδειξαν, πως στον εγκέφαλο των αρουραίων και συγκεκριμένα στην περιοχή του ιπποκάμπου υπάρχουν οιστρογονικοί υποδοχείς -α, οι οποίοι βρισκόταν εκτός του κυτταρικού πυρήνα.

Πρόσφατα, οι Cambiasso et al. (2001) καλλιέργησαν υποθαλαμικούς νευρώνες από άρρενες αρουραίους με ή χωρίς την παρουσία 17-β οιστραδιόλης και διαπίστωσαν πως η αξογόνος (axogenic) δράση της οιστραδιόλης ασκούνταν μέσω ενός μηχανισμού, στον οποίο λάμβανε μέρος η κυτταρική μεμβράνη και όχι μέσω του κλασσικού μηχανισμού, στον οποίο συμμετέχουν οι πυρηνικοί υποδοχείς.

Συνοψίζοντας τα παραπάνω δεδομένα θα μπορούσαμε να υποθέσουμε, πως τα οιστρογόνα ασκούν στο υποθαλαμο-υποφυσιακό σύστημα δράσεις τόσο μέσω του κλασσικού μηχανισμού (genomic) της συμμετοχής των πυρηνικών υποδοχέων όσο και μέσω άλλων μηχανισμών, στους οποίους δεν συμμετέχουν οι πυρηνικοί υποδοχείς.

Ωστόσο τα οιστρογόνα, όπως και όλες οι φαρμακευτικές ουσίες, όποιος και να είναι ο τρόπος δράσης τους, δεν αποτελούν πανάκεια και δεν στερούνται παρενεργειών και αντενδείξεων. Η πλειονότητα των δεδομένων, που αφορούν στα αποτελέσματα από την μακρόχρονη θεραπεία με εξωγενώς χορηγούμενα οιστρογόνα, βασίζονται σε προοπτικές ή αναδρομικές επιδημιολογικές μελέτες, στις οποίες οι γυναίκες που χρησιμοποιούν οιστρογόνα συγκρίνονται με άλλες οι οποίες δεν χρησιμοποιούν. Η πρόσφατη δημοσίευση των αποτελεσμάτων της Heart and Estrogen / Progestin Study, που είναι μία κλινική μελέτη που περιλαμβάνει γυναίκες με βεβαιωμένη καρδιαγγειακή νόσο, οι οποίες λάμβαναν συνεχόμενο σχήμα θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης, έδειξε μία αύξηση στα καρδιαγγειακά περιστατικά, κατά την διάρκεια του πρώτου χρόνου θεραπείας και μόνο ένα μέτριο ευεργετικό αποτέλεσμα στην έκβαση των καρδιαγγειακών δεικτών (Hulley et al., 1998). Τα αποτελέσματα της μεγάλης αυτής κλινικής μελέτης αμφισβητούν την μείωση της επίπτωσης των συμπτωματικών καταγμάτων στις γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης.

Ακόμα και στην περίπτωση που οι περισσότερες από τις ευεργετικές δράσεις της θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης αποτελούν μία πραγματικότητα, πολλές μελέτες έχουν δείξει μία αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα μετά από μακροχρόνια χορήγηση. Ο φόβος της αύξησης της εμφάνισης καρκίνου του μαστού αποτελεί για πολλές γυναίκες την κυριότερη αιτία μη πλήρους συμμόρφωσης και διακοπής της θεραπείας (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 1997). Η μακροχρόνια συμμόρφωση ως προς τη λήψη της θεραπείας συνήθως δεν ξεπερνά το 15-40% (Ranvikar V.A., 1992). Επίσης, μερικές μελέτες συνηγορούν υπέρ μίας μικρής αύξησης στην εμφάνιση καρκίνου του ενδομητρίου, στις γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, ακόμα και στην περίπτωση που τα οιστρογόνα συνδυάζονται με προγεσταγόνα, τα οποία ασκούν αντιμιτωτική δράση στο ενδομήτριο (Beresford et al., 1997, Udoff et al., 1995).

Άλλοι παράγοντες οι οποίοι περιορίζουν τη μακροχρόνια λήψη της θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης είναι ο αυξημένος κίνδυνος της εμφάνισης εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης, στις γυναίκες που τη λαμβάνουν (Daly et al., 1996), ο αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης χολολιθιασικής νόσου, καθώς και η εντύπωση πως η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης σχετίζεται με την πρόσκτηση βάρους.

Είναι επιθυμητή, λοιπόν, η ανακάλυψη ή/και η χρήση παραγόντων, οι οποίοι θα διατηρούν τις ευεργετικές ιδιότητες των οιστρογόνων, αλλά δεν θα προκαλούν τις ανεπιθύμητες ενέργειες αυτών. Έτσι οι γυναίκες που βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών που σχετίζονται με τη χρόνια οιστρογονική ανεπάρκεια, καθώς και αυτές που επιθυμούν να διατηρήσουν και μετά την εμμηνόπαυση ένα καλό επίπεδο υγείας, θα έχουν περισσότερες επιλογές.

Αυτά υπόσχονται οι φαρμακευτικές ουσίες που τώρα ονομάζονται εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων (SERMs) και παλαιότερα ήταν γνωστές με το όνομα «αντιοιστρογόνα».

### **SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators)**

SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) ονομάζεται η ουσία που μπορεί να δρα ως οιστρογονικός αγωνιστής ή ανταγωνιστής, ανάλογα με τον συγκεκριμένο ιστό-στόχο. Επί του παρόντος τέσσερις SERMs έχουν πάρει έγκριση για κλινική χρήση. Οι τρεις από αυτούς αποτελούν ουσίες που ανήκουν στην οικογένεια του τριφενυλαιθυλαινίου και είναι η κλομιφαίνη, η ταμοξιφαίνη και η τορεμιφαίνη. Η ραλοξιφαίνη, ο άλλος SERM που βρίσκεται σε κλινική χρήση, ανήκει στην οικογένεια των βενζοθειοφαινών.

Η μεγάλη έρευνα για τις ουσίες αυτές άρχισε στη δεκαετία του 1960 σε πειραματόζωα, όταν βρέθηκε πως οι ουσίες αυτές, που θα μπορούσαν να έχουν

κάποια οιστρογονική δραστικότητα, ασκούσαν ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη των καρκινικών όγκων του μαστού.

Μερικοί από τους παράγοντες αυτούς δρουν ως ανταγωνιστές στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, όπως είναι ο μαστός ή το ενδομήτριο (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, 1998, Baker et al., 1998), αλλά ασκούν αγωνιστική δράση στον σκελετό και στο λιποπρωτεϊνικό προφίλ (Meunier et al., 1999, McDonald et al., 1995). Μπορεί έτσι οι ουσίες αυτές να αποτελέσουν εναλλακτικές θεραπείες στην πρόληψη της οστεοπόρωσης. Ήδη, η ένδειξη της ραλοξιφαίνης είναι η πρόληψη ή η θεραπεία της οστεοπόρωσης. Ιδιαίτερα στις γυναίκες που παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού ή του ενδομητρίου ή στις γυναίκες, στις οποίες αντενδείκνυται η χορήγηση οιστρογόνων καθώς και σε αυτές που δεν επιθυμούν να πάρουν θεραπεία υποκατάστασης, λόγω του φόβου ανάπτυξης καρκίνου του μαστού ή του ενδομητρίου, δίνεται η δυνατότητα εναλλακτικών θεραπειών που δεν έχουν τις αντενδείξεις των οιστρογόνων.

Κάθε ένας από αυτούς τους παράγοντες, όπως όλες οι φαρμακευτικές ουσίες, αν και περιλαμβάνεται στους SERMs, έχει το δικό του μοναδικό φάσμα δραστικότητας με ποιοτικές και ποσοτικές διαφοροποιήσεις στις αγωνιστικές και ανταγωνιστικές ιδιότητές του, στους διαφορετικούς ιστούς-στόχους.

Η κλομιφαίνη χρησιμοποιείται στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας μόνο και αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη ουσία στη θεραπεία της ανωοθυλακιωρρηκτικής υπογονιμότητας, ενώ η ταμοξιφαίνη και η τορεμιφαίνη μπορούν να χορηγηθούν τόσο στις μετεμμηνοπαυσιακές όσο και στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας (The Surgical Clinics of North America, "Breast Cancer Management", 1999). Η χρήση της ραλοξιφαίνης περιορίζεται, προς το παρόν, μόνο στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, με ένδειξη, όπως προαναφέρθηκε, την πρόληψη ή την θεραπεία της οστεοπόρωσης, (Product Circular 1997, Evista).



## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ SERMS

Οι οιστρογονικοί υποδοχείς βρίσκονται στον κυτταρικό πυρήνα και τα οιστρογόνα συνδέονται με αυτούς, αφού προηγουμένως διαχυθούν δια μέσω της κυτταρικής μεμβράνης. Οι δύο αυτοί οιστρογονικοί υποδοχείς κωδικοποιούνται από δύο διαφορετικά γονίδια και ανήκουν στην υπέρ-οικογένεια των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων, που περιλαμβάνει υποδοχείς για ποικίλα στεροειδή, τις θυρεοειδικές ορμόνες κ.α. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς -α και -β είναι παρόμοιου μεγέθους (έχουν μία αλληλουχία από περίπου 600 και 530 αμινοξέα, αντίστοιχα) και παρόμοιας δομής (Gustaffson, 1999). Στα θήλεα άτομα τα οιστρογόνα διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην αναπαραγωγή και ασκούν, όπως φαίνεται, την ευεργετική τους δράση στο σκελετό, ίσως στο καρδιαγγειακό σύστημα και στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα. Στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας τα οιστρογόνα είναι πολύ σημαντικοί ρυθμιστές των γοναδοτροπινών. Στις γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση τα επίπεδα των ενδογενών οιστρογόνων είναι σημαντικά μειωμένα σε σχέση με αυτά της αναπαραγωγικής περιόδου και κατά συνέπεια και ο ρόλος τους είναι περιορισμένος. Ωστόσο όταν χορηγούνται εξωγενώς μπορούν να τροποποιήσουν τα επίπεδα των κυκλοφορούντων γοναδοτροπινών (Hashimoto et al., 1976, Kokko et al., 1981). Η δράση τους αυτή ασκείται μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων (ERs) -α και -β (ER-α και ER-β).

Στους οιστρογονικούς αυτούς υποδοχείς ασκούν τη δράση τους και οι SERMs. Οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων (SERMs) είναι συνδέτες των οιστρογονικών υποδοχέων και σε μερικούς ιστούς δρουν ως οιστρογόνα, ενώ σε άλλους ανταγωνίζονται τη δράση των οιστρογόνων. Έτσι οι SERMs μπορεί να εμφανίζουν έναν αγωνιστικό ή ανταγωνιστικό βιοχαρακτήρα, ανάλογα με τον ιστό στον οποίο η δραστηριότητά τους εξετάζεται. Η ραλοξιφαίνη και η ταμοξιφαίνη ασκούν, για παράδειγμα, ανταγωνιστική δράση στο μαστό (The Surgical Clinics of North America, "Breast Cancer Management", 1999) και

αγωνιστική δράση στα οστά (Baker and Jaffe, 1995, Heaney et al. 1997), ενώ μόνο η ταμοξιφαίνη ασκεί αγωνιστική δράση στο ενδομήτριο, (Kedar et al., 1994).

Ποικίλες μελέτες έχουν εξετάσει την μοριακή εκλεκτικότητα των SERMs. Συνοπτικά θα μπορούσαμε να πούμε πως διαφορετικοί συνδέτες των οιστρογονικών υποδοχέων προκαλούν ιδιαίτερες δομικές αλλαγές στον οιστρογονικό υποδοχέα και με τον τρόπο αυτό επηρεάζουν την ικανότητά του να αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες (συν-κατασταλτές ή συν-διεγέρτες), σημαντικές για τη ρύθμιση της διαδικασίας της μεταγραφής του/ων γονιδίου/ων-στόχου/ων. Η μοριακή εκλεκτικότητα των SERMs αντανακλά την ποικιλία των μορφών των οιστρογονικών υποδοχέων και των συν-ρυθμιστών τους, τις διαφορές στην έκφρασή τους στους διάφορους κυτταρικούς τύπους και την ποικιλία των γονιδίων-στόχων τους.

Όπως προαναφέρθηκε, τα οιστρογόνα ασκούν τη δράση τους μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων. Για να γίνει κατανοητός ο μηχανισμός της μοριακής εκλεκτικότητας των SERMs, θα περιγραφεί παρακάτω ο μηχανισμός με τον οποίο ο οιστρογονικός υποδοχέας ρυθμίζει τη μεταγραφή των γονιδίων-στόχων. Θα γίνει αναφορά στην αλληλουχία των γεγονότων που ακολουθούν τη σύνδεση του οιστρογονικού υποδοχέα με την οιστραδιόλη.

Κατά την κλασσική οδό, η οιστραδιόλη συνδέεται με την περιοχή του οιστρογονικού υποδοχέα, που ονομάζεται ligand binding domain (LBD), και με τον τρόπο αυτό ευοδώνεται η αλληλεπίδραση του οιστρογονικού υποδοχέα (ER) με συγκεκριμένες αλληλουχίες του DNA, που ονομάζονται στοιχεία της οιστρογονικής δράσης (estrogen response elements-EREs), τα οποία μπορεί να είναι παρόντα σε διαφορετικές θέσεις και σε ποικίλο αριθμό μέσα στα γονίδια-στόχους (Tsai and O'Malley, 1994). Η περιοχή του οιστρογονικού υποδοχέα που συνδέεται με το DNA (DNA binding domain-DBD), μέσω της οποίας ο οιστρογονικός υποδοχέας αλληλεπιδρά με τα στοιχεία της οιστρογονικής δράσης (EREs), αποτελείται από περίπου 70 αμινοξέα, τα οποία καταλαμβάνουν

κεντρική θέση στην πρωτεΐνη. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς -α και -β παρουσιάζουν περίπου 96% ομοιότητα στην αλληλουχία των αμινοξέων τους, στην περιοχή που συνδέονται με το DNA (DBD).

Το σύμπλεγμα ορμόνης-οιστρογονικού υποδοχέα αλληλεπιδρά με τα στοιχεία της οιστρογονικής δράσης (EREs) ως ομο- ή ετεροδιμερή των οιστρογονικών υποδοχέων -α και -β (Tsai and O'Malley, 1994, Hall and Mc Donnell, 1999). Μετά τη σύνδεση με το DNA, στην ενεργοποίηση της διαδικασίας της μεταγραφής υπεισέρχονται δύο περιοχές του οιστρογονικού υποδοχέα, που ονομάζονται AF-1 και AF-2. Η AF-2 περιοχή βρίσκεται στο σχετικά καλά προστατευμένο καρβόξυ-τελικό μισό του οιστρογονικού υποδοχέα -α και -β και αλληλοεπικαλύπτεται με την περιοχή LBD. Η δραστηριότητά της επάγεται από τη σύνδεση με την οιστραδιόλη. Αντίθετα η περιοχή AF-1, βρίσκεται στο αμινόξυ-τελικό άκρο του οιστρογονικού υποδοχέα, που είναι σχετικά απροστάτευτη και στους δύο υποδοχείς (-α και -β), τόσο δομικά όσο και λειτουργικά (Hall and Mc Donnell).

Τόσο η AF-1, όσο και η AF-2 δρουν, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, ανευρίσκοντας τους συν-παράγοντες, οι οποίοι είναι μόρια, τα οποία επάγουν τη μεταγραφή του γονιδίου-στόχου, χωρίς οι ίδιοι να συνδέονται με το DNA (McKenna et al. 1999). Οι συν-παράγοντες ίσως δρουν μέσω της αναδιάταξης της δομής της χρωματίνης του εκκινήτη (promoter) του γονιδίου-στόχου, καθώς και της διευκόλυνσης της έναρξης της μεταγραφής με γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες και της RNA πολυμεράσης II, μέσω αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης (McKenna et al., 1999, Glass and Rosenfel, 2000).

## **ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΚΡΙΤΟΥ ΒΙΟΧΑΡΑΚΤΗΡΑ ΤΩΝ SERMs**

### **A. Γενικό Μοντέλο.**

Το πρώτο μοντέλο για τη ρύθμιση της δραστικότητας του οιστρογονικού υποδοχέα (ER) από τα οιστρογόνα και τα αντιοιστρογόνα, βασιζόταν πάνω σε δύο θεωρήσεις.

Η πρώτη είναι πως ο κάθε οιστρογονικός υποδοχέας υπάρχει σε μία από δύο διακριτές καταστάσεις, δηλαδή είτε σε λειτουργική κατάσταση είτε σε μη λειτουργική κατάσταση. Σε μη λειτουργική κατάσταση βρίσκεται, όταν απουσιάζει ο συνδέτης (ligand) ή όταν είναι παρών ένας ανταγωνιστής και σε λειτουργική κατάσταση βρίσκεται κυρίως όταν επάγεται από τους αγωνιστές.

Η δεύτερη θεώρηση είναι, πως ο βιοχαρακτήρας του συνδέτη καθορίζεται αποκλειστικά από την ίδια του τη δομή, η οποία καθορίζει τη συγγενεία του με τον υποδοχέα και την ικανότητά του να προκαλεί τη μεταβολή από μία κατάσταση μη λειτουργική σε μια κατάσταση λειτουργική και το αντίστροφο, ανεξάρτητα από τον τύπο του κυττάρου. Έτσι, σύμφωνα με το γενικό μοντέλο, ένας δεδομένος συνδέτης (ligand) θα αναμενόταν να έχει τον ίδιο βιοχαρακτήρα σε κάθε κύτταρο (Katzenellenbogen et al., 1996).

Σε μία μεταγενέστερη μελέτη, αλλά πριν ανακαλυφθεί η ύπαρξη και δεύτερου οιστρογονικού υποδοχέα, του οιστρογονικού υποδοχέα -β, οι Katzenellenbogen et al. (1997) προτείνουν ένα μοντέλο, κατά το οποίο ο βιοχαρακτήρας των στεροειδών ορμονών και η εκλεκτικότητα που δείχνουν προς τους πυρηνικούς υποδοχείς πιθανώς να οφείλεται σε τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς. Η λειτουργία των μηχανισμών αυτών εξαρτάται από α) την εκλεκτικότητα του συνδέτη, β) από την εκλεκτικότητα του υποδοχέα και γ) από την εκλεκτικότητα της ομάδας των μορίων, που αλληλεπιδρούν με το σύμπλεγμα συνδέτη-υποδοχέα. Το μοντέλο αυτό βρίσκει εφαρμογή και στους οιστρογονικούς υποδοχείς και κατά συνέπεια στη δράση των SERMs.

## **B. Τροποποιημένο μοντέλο**

Για να γίνει κατανοητή η ικανότητα που έχουν οι SERMs να ενεργοποιούν σε μερικούς ιστούς τον οιστρογονικό υποδοχέα, ενώ σε άλλους να τον αναστέλλουν, ένα μεταγενέστερο μοντέλο που λαμβάνει το παραπάνω μοντέλο σαν βάση και αξιοποιεί πιο σύγχρονα δεδομένα προτείνει τους παρακάτω μηχανισμούς μέσω των οποίων δρουν οι SERMs : **α)** διαφορετικοί συνδέτες των οιστρογονικών υποδοχέων (π.χ. SERMs) μπορεί να συνδεθούν εκλεκτικά με τον ER-α ή με τον ER-β, **β)** η φύση του συνδέτη και του υπότυπου του ER, καθορίζουν την διαμόρφωση του συμπλέγματος ER-συνδέτη, **γ)** η δομή του συμπλέγματος ER-συνδέτη καθορίζει την ικανότητά του να αλληλεπιδρά με άλλα μόρια, **δ)** μερικά από τα μόρια αυτά, καθώς και οι υπότυποι του οιστρογονικού υποδοχέα αυτοί καθαυτοί μπορεί να εκφράζονται διαφορετικά ή να έχουν διαφορετική πρόσβαση στο σύμπλεγμα SERM-ER, ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου και **ε)** η αλληλεπίδραση των μορίων με τον οιστρογονικό υποδοχέα καθορίζει την δραστηκότητά τους πάνω στα γονίδια-στόχους (Dutertre and Smith, 2000).

Τα μόρια τα οποία αλληλεπιδρούν με τον ER και επηρεάζουν το βιοχαρακτήρα του SERM είναι κυρίως συρρυθμιστές (συγκатаσταλτές ή συνδιεγέρτες), αλλά μπορεί και να περιλαμβάνουν και ειδικούς ή γενικούς παράγοντες μεταγραφής, καθώς και το DNA, το οποίο παρέχει το οργανωτικό πλέγμα των αλληλεπιδράσεων αυτών. Η δομή της χρωματίνης του εκκινητή (promoter) του γονιδίου-στόχου, ίσως να ποικίλει μεταξύ των διαφορετικών τύπων κυττάρων και έτσι να επηρεάζει τη δραστηκότητα του οιστρογονικού υποδοχέα. Επίσης, τροποποιήσεις που λαμβάνουν χώρα μετά τη μετάφραση, όπως είναι η φωσφορυλίωση και πιθανώς η ακετυλίωση του ER και των συρρυθμιστών, ίσως να ρυθμίζουν τις αλληλεπιδράσεις τους και τις δραστηκότητές τους (Smith et al., 2000, McKenna et al., 1999). Αναλυτικότερα, οι μηχανισμοί δράσης των SERMs έχουν ως εξής:

**α). Διαφορετικοί SERMs προκαλούν διαφορετική διαμόρφωση του οιστρογονικού υποδοχέα.**

Έχει αποδειχθεί πως σε πολλές περιπτώσεις διαφορετικοί SERMs ασκούν ξεχωριστή δράση σε ένα δεδομένο υπότυπο του οιστρογονικού υποδοχέα και σε ένα δεδομένο σύστημα κυττάρου-εκκινητή (promoter) (Dutertre and Smith, 2000). Διάφορες μελέτες έχουν επίσης δείξει πως διαφορετικοί συνδέτες προκαλούν ξεχωριστή διαμόρφωση στην περιοχή του υποδοχέα που συνδέεται με το συνδέτη (LBD), τόσο στον οιστρογονικό υποδοχέα -α όσο και στον -β, καθώς και ότι τα αντιοιστρογόνα όπως η ταμοξιφαίνη και η ραλοξιφαίνη, επάγουν δομές οι οποίες είναι διαφορετικές από αυτή του υποδοχέα χωρίς συνδέτη (Martin et al. 1998, McDonnell et al. 1995, Brozowski et al. 1997, Shiau et al. 1998, Paige et al. 1999, Pike et al. 1999).

**β). Οι SERMs επηρεάζουν την ικανότητα του ER να αλληλεπιδρά με τους συρρυθμιστές.**

Η οιστραδιόλη επιτείνει την μεταγραφική δραστικότητα του οιστρογονικού υποδοχέα με το να προωθεί την λειτουργική και φυσική αλληλεπίδραση με τους συρρυθμιστές. Έχουν, επίσης, βρεθεί αρκετοί συρρυθμιστές που αλληλεπιδρούν με τους οιστρογονικούς υποδοχείς που είναι συνδεδεμένοι με την ταμοξιφαίνη (Dutertre and Smith, 2000). Είναι, επίσης πιθανό (Paige et al., 1999) το γεγονός πως διαφορετικοί SERMs ρυθμίζουν με διαφορετικό τρόπο τη φυσική αλληλεπίδραση οιστρογονικού υποδοχέα - συρρυθμιστή.

Τα δεδομένα αυτά συνηγορούν υπέρ του ότι η ταυτότητα των συρρυθμιστών και / ή των περιοχών του οιστρογονικού υποδοχέα με τις οποίες αλληλεπιδρούν μπορεί να είναι διαφορετικές, εξαρτώμενες από το αν το οιστρογόνο ή ο SERM είναι συνδεδεμένα με τον οιστρογονικό υποδοχέα. Λαμβάνοντας αυτό υπόψη φαίνεται πως, διαφορετικοί συνδέτες παρέχουν στον οιστρογονικό υποδοχέα την ικανότητα να αλληλεπιδρά με ξεχωριστές υποομάδες συδιεγερτών και συγκατασταλτών, οι οποίοι ρυθμίζουν τη δράση του υποδοχέα.



Άλλα επιστημονικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ του ότι ο βιοχαρακτήρας του SERM, εν μέρει τουλάχιστον, εξαρτάται από τη συγκεκριμένη σειρά ή / και από την αναλογία που οι διάφοροι συρρυθμιστές εκφράζονται, στους διάφορους τύπους κυττάρων και ειδικά αυτοί που αλληλεπιδρούν διαφορετικά με τον οιστρογονικό υποδοχέα, ανάλογα με τα αν ο τελευταίος είναι συνδεδεμένος με την οιστραδιόλη ή με κάποιο SERM (Dutertre and Smith).

**γ). Ο βιοχαρακτήρας του SERM εξαρτάται από τη φύση του υπότυπου του οιστρογονικού υποδοχέα ( ER).**

Έχει βρεθεί πως σε συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές η ταμοξιφαίνη δρα μερικώς αγωνιστικά όταν συνδέεται με τον οιστρογονικό υποδοχέα -α και πλήρως ανταγωνιστικά όταν συνδέεται με τον οιστρογονικό υποδοχέα -β (Hall and McDonnell 1999). Επιπλέον, όταν και οι δύο οιστρογονικοί υποδοχείς συν-εκφράζονται μέσα στο ίδιο κύτταρο, τότε η συνδυασμένη απάντηση σε ένα συνδέτη, μπορεί να είναι διαφορετική από την απάντηση που θα προκαλούσε ο κάθε υπότυπος (-α και -β) χωριστά. Η απάντηση αυτή είναι πιθανό να εξαρτάται από την αναλογία μεταξύ των ER-α και ER-β. Το γεγονός ότι οι οιστρογονικοί υποδοχείς -α και -β (ER-α, ER-β) εκφράζονται διαφορετικά στους διάφορους ιστούς και ότι απαντούν διαφορετικά σε ένα δεδομένο SERM, ίσως είναι κατά ένα μέρος υπεύθυνο για την εκλεκτικότητα των SERMs στους διάφορους ιστούς (Gustafsson 1999).

Είναι χαρακτηριστικό ότι η ραλοξιφαίνη εμφανίζει τέσσερις φορές μεγαλύτερη συγγένεια (σε σχέση με την 17β-οιστραδιόλη) με τον οιστρογονικό υποδοχέα -α σε σχέση με το -β, ενώ η σχετική συγγένεια της ταμοξιφαίνης και για τους δύο υποδοχείς είναι η ίδια (Kuiper et al. 1998). Οι Paige et al. (1999) σε μελέτες *in vitro* έδειξαν πως το σύμπλεγμα του SERM με τον οιστρογονικό υποδοχέα -α και -β αλληλεπιδρά με διαφορετικά συνθετικά πεπτίδια, των οποίων ο τρόπος δράσης μοιάζει με αυτόν που εμφανίζεται κατά την αλληλεπίδραση του υποδοχέα με τους συδιεγέρτες. Φαίνεται να είναι πιθανό οι δύο οιστρογονικοί

υποδοχείς να εμφανίζουν διαφορετική ικανότητα να αλληλεπιδρούν με τα συρρυθμιστικά μόρια (Dutertre and Smith, 2000).

**δ). Ο βιοχαρακτήρας του SERM εξαρτάται από τη φύση του εκκινητή στόχου ( target promoter).**

Φαίνεται ότι ισχύει τόσο για τον ER-α όσο και για τον ER-β. Επίσης, η ακριβής αλληλουχία του ERE ίσως επηρεάζει τη δραστικότητα του SERM. Ωστόσο, η επίδραση της δομής της χρωματίνης πάνω στον βιοχαρακτήρα του SERM και η πιθανότητα της διαφορετικής χρήσης των συρρυθμιστών πάνω σε συγκεκριμένους εκκινητές δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί (Dutertre et al., 2000).

**ε). Η επίδραση των ενδοκυττάρων σηματοδοτικών οδών (intracellular signaling pathways) στην δραστικότητα του SERM.**

Ο βιοχαρακτήρας του SERM μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τη δραστικότητα των ενδοκυττάρων σηματοδοτικών οδών (intracellular signaling pathways), οι οποίες επάγονται από εξωκυττάρους παράγοντες, όπως η αυξητική ορμόνη και μπορεί να αλληλεπιδράσουν με τους οιστρογονικούς υποδοχείς ( Smith 1997). Οι Fugimoto and Katzenellenbogen (1994) έδειξαν πως σε κυτταρικές σειρές MCF-7 καρκίνου του μαστού με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς -α, η ενεργοποίηση της οδού της cAMP/πρωτεϊνικής κινάσης A αυξάνει τη μερική αγωνιστική δράση της ταμοξιφαίνης και μειώνει την ανταγωνιστική της δραστικότητα. Κατά τους ίδιους ερευνητές αποτελέσματα σαν αυτά θα μπορούσαν να παίζουν ρόλο στην αντίσταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού, με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, στη θεραπεία με ταμοξιφαίνη.

## **ΤΟ ΚΛΙΝΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΤΩΝ SERMs**



## ΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

### 1. Επιδράσεις στο μαστό.

Η δράση των SERMs πάνω στο μαζικό αδένωμα και ιδιαίτερα στον καρκίνο του μαστού έχει δώσει ώθηση στην έρευνα για την ανάπτυξη αυτών των ουσιών και ιδιαίτερα της ταμοξιφαίνης.

Η ταμοξιφαίνη μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού στον αντίθετο μαστό και αυξάνει το ελεύθερο νόσου διάστημα στις γυναίκες με καρκίνο του μαστού σε πολλά στάδια της νόσου, συμπεριλαμβανομένων τόσο των μικρών όγκων με αρνητικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες, όσο και των μεταστατικών. Τελευταία έλαβε έγκριση και για προφυλακτική χορήγηση σε γυναίκες ηλικίας μεγαλύτερης των 35 χρόνων με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, (The Surgical Clinics of North America, "Breast Cancer Management", 1999).

#### α). Γυναίκες με πρωτοπαθή καρκίνο του μαστού, χωρίς μεταστάσεις.

Συνολικά, σε 55 τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες, περισσότερες από 37.000 γυναίκες με εγχειρήσιμο καρκίνο του μαστού, οι οποίες έλαβαν μετά την χειρουργική επέμβαση ταμοξιφαίνη και παρακολούθηθηκαν επί 10 έτη, το ετήσιο ποσοστό υποτροπών μειώθηκε κατά 26% και οι θάνατοι κατά 14%. Το όφελος από τη χρήση της ταμοξιφαίνης είναι μεγαλύτερο, όταν αυτή χρησιμοποιείται για χρονικό διάστημα 5 ετών, παρά όταν χρησιμοποιείται για μικρότερο διάστημα. Η ωφέλεια από τη χρήση της ταμοξιφαίνης είναι μεγαλύτερη για τις ασθενείς που εμφάνισαν καρκίνο με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς. Μεταξύ των γυναικών που πάσχουν από καρκίνο του μαστού με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, η θεραπεία με ταμοξιφαίνη επί 5 έτη, μειώνει τον ετήσιο ρυθμό υποτροπών κατά 50% και τον ετήσιο ρυθμό θανάτων κατά 28% (The Surgical Clinics of North America, "Breast Cancer Management", 1999).

Η ωφέλεια από τη χρήση της ταμοξιφαίνης, ισχύει τόσο για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες όσο και τις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας, που πάσχουν από καρκίνο του μαστού (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, 1998).

### **β). Γυναίκες με μεταστατική νόσο.**

Η ωφέλεια από τη χρήση της ταμοξιφαίνης ισχύει και στις γυναίκες που πάσχουν από μεταστατική νόσο. Συνολικά, 30% των γυναικών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού απαντά θετικά στη χορήγηση ταμοξιφαίνης κατά μέσο όρο για χρονικό διάστημα ενός έτους και σε ένα επιπλέον ποσοστό 20% η νόσος δεν εξελίσσεται για χρονικό διάστημα 6 μηνών. Η ύπαρξη ή μη στον όγκο οιστρογονικών υποδοχέων είναι ένας σημαντικός δείκτης, καθώς και το αν η ασθενής βρίσκεται στην εμμηνόπαυση ή όχι. Οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ανταποκρίνονται καλύτερα στην ταμοξιφαίνη (The Surgical Clinics of North America, "Breast Cancer Management", 1999).

Η τορεμιφαίνη, επίσης, έχει δείξει να είναι αποτελεσματική στη θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου του μαστού. Σε μία σχετικά μεγάλη διεθνή μελέτη που περιελάμβανε 648 γυναίκες με μεταστατικό καρκίνο του μαστού, στις οποίες προηγουμένως δεν είχε χορηγηθεί οποιαδήποτε θεραπεία, οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν μία από δύο διαφορετικές δόσεις τορεμιφαίνης ή ταμοξιφαίνης. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό των ασθενών που απάντησαν στη θεραπεία, ούτε και στη διάρκεια της απάντησης, μεταξύ των διαφορετικών θεραπευτικών σχημάτων (Hayes et al., 1995). Οι Valavaara et al. (1988) χορήγησαν τορεμιφαίνη σε γυναίκες με ανεγχείρητο καρκίνο του μαστού και θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς και διαπίστωσαν πως το 17% των γυναικών απάντησε πλήρως στην θεραπεία, το 37% μερικώς, ενώ το 26% δεν εμφάνισε καμία μεταβολή.

### γ). Χρήση των SERMs στην πρόληψη του καρκίνου του μαστού.

Λόγω της σημαντικής μείωσης στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού στον αντίθετο μαστό, στις γυναίκες με πρωτοπαθή καρκίνο του μαστού που λάμβαναν ταμοξιφαίνη, πολλές έρευνες για σχεδόν 10 έτη εστίαζαν στο αν θα μπορούσε η ταμοξιφαίνη να χορηγηθεί προφυλακτικά σε γυναίκες που εμφάνιζαν αυξημένο κίνδυνο προσβολής από τη νόσο. Η μεγαλύτερη από αυτές τις μελέτες είναι η NSABP P-1 των Fisher et al. (1994). Στη μελέτη αυτή, υψηλού κινδύνου θεωρήθηκαν οι γυναίκες που είχαν ηλικία μεγαλύτερη από τα 60 έτη (χωρίς άλλους παράγοντες κινδύνου) ή αυτές που είχαν ηλικία μεταξύ 35-59 έτη, αλλά με ένα 5-ετή προσδοκώμενο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού τουλάχιστον 1.66% (βασισμένο πάνω στο μοντέλο του Gail για τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού) ή τέλος αυτές που είχαν ιστορικό λοβιακού καρκινώματος *in situ*. Στη μελέτη συμμετείχαν 13.388 γυναίκες. Λόγω του εντυπωσιακού ποσοστού στη μείωση της εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες που λάμβαναν ταμοξιφαίνη, η μελέτη τερματίστηκε στα 4 έτη, ενώ είχε προγραμματιστεί να διαρκέσει 5. Η μείωση των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού αφορούσε στους διηθητικούς όσο και μη τύπους, τόσο στις μετεμμηνοπαυσιακές όσο και στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας.

Ωστόσο, δύο άλλες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στην Ιταλία (Veronesi et al., 1998) και στην Αγγλία (Powles et al., 1998) και μελετούσαν τη χορήγηση της ταμοξιφαίνης σε σχέση με την πρόληψη του καρκίνου του μαστού εμφάνισαν πολύ διαφορετικά αποτελέσματα. Η αγγλική μελέτη που ξεκίνησε το 1993, αφορούσε 2.494 γυναίκες, που είχαν συγγενή πρώτου βαθμού με καρκίνο του μαστού και κατά συνέπεια εμφάνιζαν αυξημένο κίνδυνο προσβολής από τη νόσο. Η άλλη μελέτη περιελάμβανε 5.408 γυναίκες, που δεν εμφάνιζαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, αλλά είχαν υποβληθεί σε υστερεκτομή για μη κακοήγη νόσο. Στην πρώτη μελέτη οι γυναίκες παρακολουθήθηκαν κατά μέσο όρο για 70 μήνες, ενώ στη δεύτερη για 46 μήνες. Και στις δύο αυτές

μελέτες δεν υπήρξε διαφορά στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού μεταξύ των γυναικών που λάμβαναν ταμοξιφαίνη και αυτών που λάμβαναν placebo.

Η ραλοξιφαίνη έχει χρησιμοποιηθεί σε υγιείς γυναίκες για να εξεταστεί η δυνατότητά της στην πρόληψη της οστεοπόρωσης και σε γυναίκες με οστεοπόρωση για να εξεταστεί η δυνατότητά της στην πρόληψη των καταγμάτων. Αν και το κύριο ζητούμενο των μελετών αυτών ήταν στην αρχή το πόσο η ραλοξιφαίνη μπορούσε να διατηρήσει την οστική μάζα και να επηρεάσει τη συχνότητα εμφάνισης των οστεοπορωτικών καταγμάτων, για λόγους ασφαλείας πραγματοποιούνταν καταγραφή και των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού και του ενδομητρίου, που εμφανιζόταν στις γυναίκες αυτές. Η μεγαλύτερη μελέτη είναι η MORE (Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation), που περιλάμβανε 7.704 εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, με μέση ηλικία τα 66.5 έτη, που έπασχαν από οστεοπόρωση, η οποία ορίστηκε ως εκσεσημασμένη παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης ή /και τιμή της οστικής μάζας του ισχίου ή της σπονδυλικής στήλης εντός των οστεοπορωτικών ορίων. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν ή στην ομάδα με το εικονικό φάρμακο (placebo) ή σε μία από τις δύο διαφορετικές δόσεις της ραλοξιφαίνης. Μετά από μία μέση παρακολούθηση 28.9 μηνών, ο συνολικός κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού μειώθηκε στην ομάδα που λάμβανε τη ραλοξιφαίνη κατά 74%, ανεξάρτητα από τη δόση (Cummings et al., 2002).

## **2. Επιδράσεις στο αναπαραγωγικό σύστημα.**

### **α). Επιδράσεις στην ωοθήκη.**

Η δράση των οιστρογόνων στην ωοθήκη, τόσο στα κύτταρα της θήκης όσο και στα κοκκώδη κύτταρα, είναι θεμελιώδους σημασίας στη διαδικασία της αναπαραγωγής και κατά συνέπεια έχει σημασία να γίνει μία ανασκόπηση της

δράσης που έχουν οι SERMs, που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη, στην ωοθήκη.

Η κύρια χρήση της κλομιφαίνης είναι η πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας στις γυναίκες με ανωοθυλακιορρηκτική υπογονιμότητα. Οι Messinis and Nillius (1982), σε μία μελέτη που συνέκρινε την ωοθυλακιορρηκτική ικανότητα της ταμοξιφαίνης και της κλομιφαίνης σε δύο ομάδες γυναικών με ανωοθυλακιορρηκτική υπογονιμότητα, κατέληξαν στο ότι και τα δύο φάρμακα προκαλούσαν ωοθυλακιορρηξία σε ποσοστά που δε διέφεραν στις δύο ομάδες σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Υπάρχουν μελέτες που δείχνουν πως η κυκλική χορήγηση της κλομιφαίνης στις γυναίκες με προβλήματα υπογονιμότητας με σκοπό την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας, ίσως αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών (Rossing et al., 1994, Whittemore et al., 1992). Η ταμοξιφαίνη, επίσης, αυξάνει την συχνότητα εμφάνισης κύστεων της ωοθήκης, αλλά δεν υπάρχουν δεδομένα που να δείχνουν πως ο καρκίνος των ωοθηκών αυξάνει με τη χρήση της ταμοξιφαίνης (Shushan et al., 1996, Fisher et al., 1994). Οι περισσότερες από τις κύστεις, που σχετίστηκαν με τη χρήση της ταμοξιφαίνης, εξαφανίστηκαν μετά από τη διακοπή του φαρμάκου (Shushan et al., 1996).

Η πειραματική χορήγηση σε αρουραίους πολύ υψηλών δόσεων ραλοξιφαίνης για χρονικό διάστημα 2 ετών, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της εμφάνισης καλοήθων όγκων των ωοθηκών, του τύπου κοκκωδών/κυττάρων θήκης. Ωστόσο δεν παρατηρήθηκε αύξηση των περιπτώσεων καρκίνου των ωοθηκών (Francis, 1997). Στο ενημερωτικό φυλλάδιο (Product Circular) του 1997 της φαρμακευτικής εταιρείας Eli Lilly για τη ραλοξιφαίνη αναφέρεται πως οι γυναίκες που έλαβαν το φάρμακο για την πρόληψη ή θεραπεία της οστεοπόρωσης, δεν εμφάνισαν αυξημένη συχνότητα των καλοήθων ή κακοήθων ωοθηκικών όγκων. Σε μία πιο πρόσφατη πειραματική μελέτη η χορήγηση ραλοξιφαίνης σε αρουραίους για χρονικό διάστημα 6 μηνών, είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση σε ποσοστό 58-80% των πειραματοζώων (ανάλογα με τη δόση της

ραλοξιφαίνης) εστιακών μικρών ή μέτριων υπερπλαστικών αλλοιώσεων στα κοκκώδη κύτταρα των ωοθυλακίων (Long et al., 2001).

## **β). Επιδράσεις στη μήτρα.**

Η μήτρα αποτελεί όργανο-στόχο όλων των SERMs. Η ταμοξιφαίνη που αποτελεί την ουσία που κυρίως χορηγείται στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καρκίνο του μαστού επί πολλά έτη, διαπιστώθηκε πως στο 10% περίπου των γυναικών που λάμβαναν το φάρμακο προκαλούσε υπερπλασία του ενδομητρίου. Λόγω αυτής της σημαντικής οιστρογονικής δράσης που η ταμοξιφαίνη ασκεί στο ενδομήτριο και της συνεπαγόμενης προδιάθεσης για ανάπτυξη καρκίνου του οργάνου αυτού, είναι σημαντικό να σημειώσουμε τη δράση που οι διάφοροι SERMs ασκούν στο όργανο αυτό.

Η ταμοξιφαίνη ασκεί ισχυρή οιστρογονική δράση στη μήτρα και κατά συνέπεια οι γυναίκες στις οποίες χορηγείται παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης των καλοήθων παθήσεων της μήτρας, συμπεριλαμβανομένων των ινομυωμάτων, της αδενομύωσης, της υπερπλασίας του ενδομητρίου, καθώς και του καρκίνου του ενδομητρίου (Fisher et al., 1994, Neven et al., 1994, Cohen et al., 1993). Στην έρευνα για τη θεραπεία του μαστού με το κωδικό όνομα NSABP-14 οι Fisher et al. (1994) διαπίστωσαν πως ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου, στις γυναίκες που λάμβαναν ταμοξιφαίνη, ήταν 7.5. Ωστόσο στην έρευνα αυτή, δεν υπάρχουν στοιχεία για το αν οι ενδομητρικοί αυτοί όγκοι που εμφανίστηκαν στις γυναίκες που λάμβαναν ταμοξιφαίνη ήταν υψηλότερου βαθμού κακοήθειας από αυτούς των γυναικών που δεν λάμβαναν καμία θεραπεία ή από τις γυναίκες που λάμβαναν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης με οιστρογόνα.

Σε μία άλλη αγγλική μελέτη που ερευνούσε την προφυλακτική χορήγηση ταμοξιφαίνης στις γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του



μαστού, οι γυναίκες που λάμβαναν το φάρμακο εμφάνισαν μεγαλύτερο μέγεθος μήτρας και αυξημένη ροή αίματος σε σχέση με αυτές που λάμβαναν placebo. Το 39% των γυναικών που λάμβαναν ταμοξιφαίνη είχαν ιστολογικά στοιχεία ανώμαλου ενδομητρίου (το 16% εμφάνισε στοιχεία άτυπης υπερπλασίας) σε σχέση με το 10% των γυναικών που λάμβαναν το placebo (Kedar et al., 1994). Άλλη μελέτη του Εθνικού Ινστιτούτου Καρκίνου των Η.Π.Α, διαπίστωσε πως οι γυναίκες που λάμβαναν προληπτικά ταμοξιφαίνη είχαν 2.53 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου, σε σχέση με αυτές που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο. Στις γυναίκες που είχαν ηλικία μεγαλύτερη των 50 ετών, ο σχετικός κίνδυνος ήταν 4.01. Όλοι οι ενδομητρικοί κακοήθεις όγκοι, που διαγιγνώσθηκαν κατά τη μελέτη αυτή, ήταν σταδίου I (Fisher et al., 1994).

Μία από τις μεγάλες διαφορές μεταξύ της ταμοξιφαίνης από τη ραλοξιφαίνη, είναι η δράση τους πάνω στην μήτρα. Σε αντίθεση με την ταμοξιφαίνη, η ραλοξιφαίνη δεν φαίνεται να διεγείρει τη μήτρα. Δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα κάποια μελέτη σε αύξηση του μεγέθους της μήτρας ή σε ανώμαλη κολπική αιμόρροια ενδομητρικής προέλευσης στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λάμβαναν ραλοξιφαίνη (Delmas et al., 1997). Σε μία πιο πρόσφατη μελέτη των Palomba et al. (2001), που αφορούσε στην επίδραση της ραλοξιφαίνης πάνω στο μέγεθος της μήτρας και των ινωμωμάτων μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, βρέθηκε πως μετά από 12 μήνες θεραπείας οι γυναίκες που λάμβαναν ραλοξιφαίνη σε δόση 60mg/ημέρα παρουσίασαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μείωση του μεγέθους της μήτρας και των ινωμωμάτων, σε σχέση με τις γυναίκες που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο. Επίσης από τη μελέτη αυτή προκύπτει πως μεταξύ των δύο ομάδων δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις αιμορραγίες ενδομητρικής προέλευσης.

Οι Cohen et al. (2000), σε μία άλλη μελέτη που επίσης αξιολογούσε τη δράση της ραλοξιφαίνης στη μήτρα υγιών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, που λάμβαναν το φάρμακο για 3 έτη, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η ραλοξιφαίνη

χορηγούμενη στις γυναίκες αυτές για το ανωτέρω χρονικό διάστημα και σε δόσεις από 30-150 mg/ημέρα δεν προκάλεσε αύξηση του μεγέθους της μήτρας ούτε κολπική αιμορραγία ούτε σταγονοειδή αιμόρροια. Κατά συνέπεια οι συγγραφείς καταλήγουν, πως κάθε κολπική αιμόρροια κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ραλοξιφαίνη θα πρέπει να θεωρείται μη αναμενόμενη και να χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Τα μόνα δεδομένα, που υπάρχουν για τη δράση της ραλοξιφαίνης στο ενδομήτριο των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας, είναι από τη μελέτη των Baker et al. (1998). Οι συγγραφείς παίρνοντας βιοψίες από το ενδομήτριο των γυναικών αυτών πριν και μετά τη χορήγηση ραλοξιφαίνης διαπίστωσαν, πως ο αριθμός μιτώσεων στους αδένες ήταν μικρότερος στον κύκλο κατά τον οποίο οι γυναίκες λάμβαναν τη ραλοξιφαίνη ( $P=0.05$ ). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις βιοψίες του ενδομητρίου κατά την αναπαραγωγική φάση, σε ό,τι αφορά τον αριθμό των αδένων και τον αριθμό των μιτώσεων του στρώματος, όταν οι βιοψίες ελήφθησαν πριν ή μετά τη χορήγηση της ραλοξιφαίνης.

Αξίζει ίσως να σημειωθεί στην ενότητα αυτή, πως οι Golstein et al. (2001) σε μία άλλη μελέτη διαπίστωσαν, πως η ραλοξιφαίνη δεν αύξανε την χαλάρωση των τοιχωμάτων του πυελικού εδάφους, αλλά πως για ένα ξεκάθαρο αποτέλεσμα της προστατευτικής δράσης της ραλοξιφαίνης πάνω στο πυελικό έδαφος απαιτείται περισσότερη έρευνα.

Η δράση της κλομιφαίνης στο ενδομήτριο, φαίνεται να είναι αντιοιστρογονική. Οι Kokko et al. (1981) χορήγησαν σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που θα έπαιρναν συνολικά για 6 μήνες συνεξευγμένα οιστρογόνα, κυκλικά κάθε 7 εβδομάδες και για χρονικό διάστημα 10 ημερών κλομιφαίνη σε δόση 50mg/ημέρα μόνη της ή σε συνδυασμό με τα λαμβανόμενα συνεξευγμένα οιστρογόνα και διαπίστωσαν, πως οι οιστρογονικοί υποδοχείς του ενδομητρίου μειώθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, μετά από τους δύο κύκλους χορήγησης της κλομιφαίνης. Επίσης διαπίστωσαν, πως και η συγκέντρωση των



προγεστερονικών υποδοχέων του ενδομητρίου μειώθηκε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ύστερα από τον πρώτο κύκλο χορήγησης της κλομιφαίνης, δράση που θεωρήθηκε αντιοιστρογονική. Οι Kauprila et al. (1981) σε μία ανάλογη με τη παραπάνω μελέτη, βρήκαν πως μετά τον πρώτο και τον τρίτο κύκλο χορήγησης της κλομιφαίνης το ενδομήτριο παρουσίαζε ιστολογική εικόνα ατροφίας στο 77% και στο 73% των γυναικών αντίστοιχα, σε σχέση με το 41% αυτών μετά το τέλος του πρώτου κύκλου χορήγησης των συνεζευγμένων οιστρογόνων. Οι McKenna et al. (1988, *Baillieres-Clinical Obstetrics and Gynaecology*) υποστηρίζουν πως η κλομιφαίνη είναι πιθανό, αλλά όχι απολύτως σίγουρο πως δεν σχετίζεται με κάποια ειδική ανωμαλία του ενδομητρίου, όταν δεν υπάρχει ανεπάρκεια της ωχρινικής φάσης. Ωστόσο έχουν παρατηρηθεί μικρές διαφορές στο ποσοστό των μιτώσεων και στα κενोटόπια της βάσης του αδενικού επιθηλίου. Ο χαμηλότερος μιτωτικός δείκτης στις γυναίκες που λάμβαναν κλομιφαίνη, αποδόθηκε στην ανασταλτική δράση του φαρμάκου πάνω στη μιτωγόνο δράση της οιστραδιόλης.

Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν πως η δράση της κλομιφαίνης πάνω στην τραχηλική βλέννη είναι ξεκάθαρα αντιοιστρογονική και πως η τραχηλική βλέννη στις γυναίκες που λαμβάνουν κλομιφαίνη είναι πτωχότερη, σε σχέση με αυτές που δε λαμβάνουν, αν και δεν θα πρέπει να παραγνωρίζεται το γεγονός πως μέχρι και 20% των γυναικών εμφανίζει χαμηλό τραχηλικό σκορ (Insler score), ακόμα και μετά από 4 ημέρες θεραπείας με 150 mg αιθυνυλοιστραδιόλη /ημέρα. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, καθώς η ωρίμανση του ωοθυλακίου προχωρά φαίνεται να βελτιώνεται και η ποιότητα της τραχηλικής βλέννης.

#### **γ). Επιδράσεις στον κόλπο.**

Από τη μεγάλη μελέτη του Εθνικού Ινστιτούτου για τον Καρκίνο των Η.Π.Α. παρατηρείται, πως το 29% των γυναικών που λάμβαναν προληπτικά ταμοξιφαίνη, παρουσίαζαν κολπική έκκριση, η οποία ήταν περισσότερο ή

λιγότερο ενοχλητική σε σχέση με το 13% των γυναικών, που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο (Fisher et al., 1994). Σε μία άλλη μικρή μελέτη μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με καρκίνο του μαστού που λάμβαναν ταμοξιφαίνη διαπιστώθηκε πως το κολπικό pH βρισκόταν πιο κοντά με αυτό των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας και τα κολπικά επιχρίσματα στις περισσότερες από αυτές τις γυναίκες εμφάνιζαν εικόνα καλά οιστρογονοποιημένου επιθηλίου, σε σχέση με τις γυναίκες μάρτυρες (Miodrag et al., 1991).

Η χορήγηση της ραλοξιφαίνης επί 3 χρόνια σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, δεν σχετίστηκε κατά τους Cohen et al. (2000) με κολπικά ενοχλήματα, όπως η ατροφία του κόλπου ή η δυσπαρεούνια. Το ποσοστό των γυναικών που διαμαρτυρήθηκε για λευκόρροια ήταν συγκρίσιμο με αυτό της ομάδας των γυναικών που δεν λάμβανε το φάρμακο. Στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας η χορήγηση της ραλοξιφαίνης οδήγησε σε μείωση του δείκτη ωρίμανσης του κολπικού επιθηλίου, κάτι που συνηγορεί υπέρ μίας ήπιας αντιοιστρογονικής δράσης του φαρμάκου στον κόλπο (Baker et al., 1998).

### **3. Επιδράσεις στις νοητικές λειτουργίες.**

Οιστρογονικοί υποδοχείς έχουν βρεθεί σε πολλά σημεία του εγκεφάλου όπως ο υποθάλαμος, η υπόφυση, αλλά και σε περιοχές που σχετίζονται με την μάθηση και τη μνήμη όπως είναι ο ιππόκαμπος και η αμυγδαλή (Shughrue et al., 1997). Επίσης, οιστρογονικοί υποδοχείς βρίσκονται κοντά στους νευροτρόπους υποδοχείς του βασικού πρόσθιου εγκεφάλου και κατά συνέπεια είναι πιθανό να προάγουν την ανάπτυξη σε περιοχές που είναι υποβοηθητικές για τη μνήμη (Toran-Allerand et al., 1992). Τα μέχρι σήμερα αποτελέσματα για τη δράση της θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης (Θ.Ο.Υ.), στις νοητικές λειτουργίες είναι αντικρουόμενα. Επιπλέον, θεωρείται δεδομένο πως και οι SERMs, θα επηρεάζουν τις νοητικές λειτουργίες, αφού θα ασκούν κάποια δράση με κάποιο τρόπο πάνω στους οιστρογονικούς υποδοχείς του εγκεφάλου.

Η ανασκόπηση των Yaffe et al. (1998) σχετικά με τα αποτελέσματα της θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης, πάνω στη νοητική λειτουργία των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, καταλήγει στα παρακάτω συμπεράσματα: α) η νοητική λειτουργία φαίνεται να βελτιώνεται στις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, πιθανώς επειδή βελτιώνονται τα εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα χωρίς όμως να υπάρχει μία ξεκάθαρη ωφέλεια στις ασυμπτωματικές γυναίκες, β) η μετα-ανάλυση σε 10 μελέτες δείχνει, πως υπάρχει μία μείωση κατά 29% του κινδύνου εμφάνισης άνοιας στις γυναίκες που χρησιμοποιούν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, αλλά τα ευρήματα από τις μελέτες αυτές είναι διαφορετικά και γ) σε 4 μελέτες που αξιολογούσαν την Θ.Ο.Υ σε γυναίκες που έπασχαν από νόσο του Alzheimer τα αποτελέσματα ήταν θετικά, αλλά οι μελέτες ήταν μικρές ή μικρής διάρκειας ή μη τυχαιοποιημένες

Οι Tang et al. (1996) σε μία άλλη μελέτη συμπεραίνουν, πως η έναρξη της νόσου του Alzheimer καθυστερεί σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στις γυναίκες που λαμβάνουν Θ.Ο.Υ., σε σχέση με εκείνες που δεν λαμβάνουν και πως ο σχετικός κίνδυνος προσβολής από τη νόσο στις γυναίκες υπό Θ.Ο.Υ είναι μικρότερος (0.4), σε σχέση με αυτές που δε λαμβάνουν.

Σε ό,τι αφορά τη δράση της ταμοξιφαίνης στις νοητικές λειτουργίες μία πρόσφατη μελέτη των Paganini-Hill et al. (2000) δείχνει πως οι γυναίκες που είχαν χρησιμοποιήσει ταμοξιφαίνη, για το σύνηθες χρονικό διάστημα των 5 ετών ανταποκρινόταν λίγο χειρότερα στα νοητικά τεστ στα οποία υποβαλλόταν, σε σχέση με τις γυναίκες που δεν είχαν πάρει ποτέ το φάρμακο. Επίσης οι γυναίκες που είχαν πάρει ταμοξιφαίνη για χρονικό διάστημα 5 ετών, είχαν επισκεφτεί τον ιατρό τους για προβλήματα μνήμης σε στατιστικά σημαντικότερο βαθμό ( $P=0.04$ ) σε σχέση με τις γυναίκες που δεν είχαν λάβει ποτέ το φάρμακο. Αυτή η διαφορά ήταν πιο ξεκάθαρη ( $P=0.003$ ) μεταξύ των γυναικών που λάμβαναν ταμοξιφαίνη κατά τη χρονική περίοδο της εκτέλεσης των δοκιμασιών και αυτών που δεν έλαβαν ποτέ ταμοξιφαίνη.

Σε μία άλλη τυχαίοποιημένη διπλή-τυφλή μελέτη οι Nickelsen et al. (1999) χορήγησαν ραλοξιφαίνη επί 12 μήνες και σε δόσεις 60 ή 120 mg σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και μελέτησαν τη δράση της πάνω στις νοητικές λειτουργίες και τη διάθεση αυτών των γυναικών, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, οι οποίες λάμβαναν εικονικό φάρμακο. Οι γυναίκες που λάμβαναν ραλοξιφαίνη δεν παρουσίασαν καμιά στατιστικώς σημαντική διαφορά στην εκτέλεση των διαφόρων δοκιμασιών που αξιολογούσαν τις νοητικές τους λειτουργίες σε σχέση με τη ομάδα των γυναικών που έπαιρνε το εικονικό φάρμακο. Η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρήθηκε ήταν μία μικρή υπεροχή - μόνο στο τέλος του πρώτου μήνα θεραπείας- στην εκτέλεση μίας δοκιμασίας που αξιολογούσε τη λεκτική μνήμη και αφορούσε την ομάδα που λάμβανε 120mg ραλοξιφαίνης/ημέρα. Επίσης δεν παρουσιάστηκε καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά στις σχετιζόμενες με τη διάθεση δοκιμασίες, μεταξύ των διαφορετικών ομάδων.

Σε παρόμοια συμπεράσματα καταλήγουν και οι Yaffe et al. (2001) που μελέτησαν σε 7478 γυναίκες με οστεοπόρωση, στις οποίες χορηγήθηκε ραλοξιφαίνη σε δύο διαφορετικές δόσεις επί 3 έτη, την επίδρασή της σε διάφορες νοητικές λειτουργίες. Συγκεκριμένα, ο κίνδυνος έκπτωσης των νοητικών λειτουργιών, όπως αυτές μετρήθηκαν με τις 4 από τις 6 δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη, δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων που έλαβαν τη ραλοξιφαίνη (60 ή 120mg/ημέρα) και της ομάδας που έλαβε το εικονικό φάρμακο. Στις 2 άλλες δοκιμασίες, που αξιολογούσαν τη λεκτική μνήμη, υπήρχε μία τάση προς μικρότερη νοητική έκπτωση στις ομάδες που λάμβαναν τη ραλοξιφαίνη.

Μία άλλη παρόμοια μελέτη καταλήγει στο ότι η ραλοξιφαίνη δεν επηρεάζει αρνητικά τα περισσότερα πεδία που σχετίζονται με την ποιότητα της ζωής και επιπλέον μετριάζει το αίσθημα του φόβου στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Strickler et al., 2000). Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα για τη δράση της

ραλοξιφαίνης πάνω στις νοητικές λειτουργίες είναι ενθαρρυντικά, με την έννοια του ότι δεν προκαλούν έκπτωση των νοητικών λειτουργιών, αλλά και απογοητευτικά, επειδή δεν δείχνουν να τις βελτιώνουν (Mayeux, 2001).

#### 4. Επιδράσεις στα οστά.

Ένδειξη για τη χορήγηση της ραλοξιφαίνης αποτελεί μέχρι σήμερα η πρόληψη ή η θεραπεία της οστεοπόρωσης.

Υπάρχουν πολλές μελέτες, που καταδεικνύουν την οιστρογονική δράση της ραλοξιφαίνης πάνω στα οστά. Σε μία διπλή-τυφλή τυχαιοποιημένη έρευνα σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η χορήγηση 60mg ραλοξιφαίνης/ημέρα για χρονικό διάστημα 3 ετών αύξησε την πυκνότητα της οστικής μάζας (BMD) στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης κατά  $1.28\% \pm 0.23\%$  (Johnston et al., 2000). Οι Meunier et al. (1999) καταλήγουν επίσης πως η ραλοξιφαίνη σε δόσεις 60 ή 150 mg/ημέρα προκαλεί σε στατιστικά σημαντικό βαθμό αύξηση της πυκνότητας της οστικής μάζας στην οσφύ, στο ισχίο, στον αυχένα του ισχίου και στον τροχαντήρα, σε σχέση με το εικονικό φάρμακο.

Σε μία άλλη μελέτη οι Heaney et al. (1997) έδειξαν πως τα 60mg ραλοξιφαίνης ημερησίως και τα 0.625mg συνεζευγμένων οιστρογόνων ημερησίως, όταν χορηγούνται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες επηρεάζουν το μηχανισμό του οστικού ανασχηματισμού σε παρόμοιο βαθμό.

Η ταμοξιφαίνη επίσης φαίνεται να ασκεί προστατευτική δράση στα οστά. Οι Baker and Jaffe (1995) στην ανασκόπησή τους, που αφορά την κλινική χρήση των αντιοιστρογόνων σημειώνουν, πως πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η ταμοξιφαίνη ίσως δρα προστατευτικά στην οστική πυκνότητα και δεν προκαλεί οστεοπόρωση, παρότι αρχικά υπήρχαν φόβοι, πως η ταμοξιφαίνη μπορεί να οδηγήσει σε οστεοπόρωση. Οι Grey et al. (1995) χορήγησαν σε δύο ομάδες υγιών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών για χρονικό διάστημα 2 ετών ταμοξιφαίνη 20

mg/ημέρα ή εικονικό φάρμακο και βρήκαν πως η μέση οστική πυκνότητα της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης (Ο.Μ.Σ.Σ.) αυξήθηκε στην ομάδα που λάμβανε την ταμοξιφαίνη κατά 1.4%, ενώ στην ομάδα που λάμβανε το εικονικό φάρμακο μειώθηκε κατά 0.7%, διαφορά που ήταν σε βαθμό στατιστικά σημαντικό. Επίσης η ταμοξιφαίνη προκάλεσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μείωση των επιπέδων της αλκαλικής φωσφατάσης, του ιονισμένου ασβεστίου και του φωσφόρου, δράση που αποδόθηκε στην ικανότητα της ταμοξιφαίνης να διατηρεί την οστική μάζα.

Επίσης σε μία μελέτη που η κλομιφαίνη χορηγήθηκε σαν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που είχαν αντένδειξη στη χρήση των οιστρογόνων, βρέθηκε πως προκαλούσε ελάττωση του ασβεστίου στον ορό καθώς και μείωση του κλάσματος υδροξυπρολίνης/κρεατινίνης, ευρήματα που συνηγορούν υπέρ μίας ευεργετικής δράσης στα οστά (Young et al., 1991).

## **5. Επιδράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα.**

Η ταμοξιφαίνη φαίνεται να μειώνει την συχνότητα των εμφραγμάτων του μυοκαρδίου και να αυξάνει την συχνότητα των θρομβοεμβολικών επεισοδίων (Jordan et al., 1991). Στις γυναίκες με καρκίνο του μαστού που λαμβάνουν ταμοξιφαίνη σαν συμπληρωματική θεραπεία, φαίνεται πως η ταμοξιφαίνη μειώνει τη συχνότητα των εμφραγμάτων του μυοκαρδίου, σε σχέση με τις ασθενείς με καρκίνο του μαστού που λαμβάνουν το φάρμακο όταν διαγιγνώσκεται η πρώτη υποτροπή (McDonald et al., 1995). Άλλη μία έρευνα μεταξύ γυναικών με καρκίνο του μαστού που έλαβαν για 5 έτη ταμοξιφαίνη ή εικονικό φάρμακο έδειξε πως το μέσο ετήσιο ποσοστό θανάτων από στεφανιαία νόσο ήταν μικρότερο στην ομάδα των γυναικών που λάμβανε την ταμοξιφαίνη σε σύγκριση με την ομάδα που λάμβανε το εικονικό φάρμακο, αν και η διαφορά μεταξύ τους ήταν στατιστικά μη σημαντική (Constantino et al., 1997).



Η δευτερογενής ανάλυση των δεδομένων από τη μελέτη MORE ( Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation), που αφορούσε την επίδραση της ραλοξιφαίνης στα καρδιαγγειακά και αγγειοεγκεφαλικά επεισόδια σε οστεοπορωτικές γυναίκες που λάμβαναν για 4 χρόνια 60 ή 120mg ραλοξιφαίνης/ημέρα ή εικονικό φάρμακο κατέληξε στα εξής συμπεράσματα: α) δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών ομάδων σε ό,τι αφορά στα στεφανιαία και τα αγγειοεγκεφαλικά επεισόδια, β) μεταξύ μίας υποκατηγορίας γυναικών που στην αρχή της μελέτης εμφάνιζαν αυξημένο κίνδυνο προσβολής από καρδιαγγειακά επεισόδια, αυτές που έλαβαν ραλοξιφαίνη εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο κίνδυνο προσβολής από καρδιαγγειακά επεισόδια, σε σχέση με αυτές που έλαβαν το εικονικό φάρμακο.

Στην ανασκόπηση των Barrett-Connor et al. (1999) για τον ρόλο των SERMs στη στεφανιαία νόσο γίνεται λόγος για την προστατευτική-οιστρογονική δράση, που φαίνεται να έχει η ραλοξιφαίνη στο ενδοθήλιο των αγγείων. Η ραλοξιφαίνη ενεργοποιεί μία ενδοθηλιακή συνθετάση του οξειδίου του αζώτου (NO) στα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα, η οποία δυνητικά ασκεί μία σημαντική και άμεση αγγειοπροστατευτική δράση, ενεργοποιώντας την παραγωγή NO από το ενδοθήλιο ( Simoncini et al., 2000).

Από διάφορες μελέτες φαίνεται πως η ραλοξιφαίνη μειώνει τα επίπεδα της LDL, του ινωδογόνου και της λιποπρωτεΐνης (α) ενώ αυξάνει τα επίπεδα της HDL<sub>2</sub> -C, ευρήματα που συνηγορούν επίσης υπέρ μίας προστατευτικής δράσης κατά των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Jonhson et al., 2000, Walsh et al., 1998, Mijatovic et al., 1999).

## **6. Επίδρασεις στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα.**

Οι SERMs που βρίσκουν εφαρμογή στην κλινική πράξη, δηλαδή η ραλοξιφαίνη, η ταμοξιφαίνη, η τορεμιφαίνη και η κλομιφαίνη, έχουν κυρίως μελετηθεί για τη δράση τους στο μαστό, στο καρδιαγγειακό σύστημα, στα οστά

και στο αναπαραγωγικό σύστημα. Αξίζει να σημειωθεί και να γίνει αναφορά της δράσης των SERMs και ιδιαίτερα της ραλοξιφαίνης και της κλομιφαίνης πάνω στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα σύμφωνα με τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα, τόσο στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες όσο και στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας.

### α). Η δράση της κλομιφαίνης

Πριν γίνει αναφορά στην κλομιφαίνη, ίσως θα ήταν ενδιαφέρον να αναφερθούν και μερικά στοιχεία χημείας και ονοματολογίας για το φαρμακευτικό αυτόν παράγοντα, γιατί σε μερικές εργασίες γίνεται λόγος μόνο για την μία ή για την άλλη μορφή, όπως εκτίθεται παρακάτω. Η κλομιφαίνη υπάρχει σε δύο μορφές, την *cis* και την *trans*, ανάλογα με τις γεωμετρικές σχέσεις των δύο φαινυλικών δακτυλίων. Η *cis* μορφή ονομάζεται ζουκλομιφαίνη και η *trans* μορφή ονομάζεται ευκλομιφαίνη. Το ρακεμικό μίγμα που χρησιμοποιείται στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας για την πρόκληση ωθυλακιορρηξίας αποτελείται κατά 38% από ζουκλομιφαίνη και κατά 62% από ευκλομιφαίνη.

Η κιτρική κλομιφαίνη άρχισε να χρησιμοποιείται στην πρόκληση ωθυλακιορρηξίας στη δεκαετία του 60. Για περισσότερο από 40 έτη παραμένει το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο φάρμακο στην πρόκληση ωθυλακιορρηξίας στις υπογόνιμες γυναίκες. Η χρήση της περιορίζεται στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας, αν και έχει χρησιμοποιηθεί και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στα πλαίσια διαφόρων μελετών (Blum et al., 1989, Kauppila et al., 1981).

Η κιτρική κλομιφαίνη, συνήθως, χορηγείται για 5 ημέρες αρχίζοντας από την 2<sup>η</sup> μέρα του εμμηνορυσιακού κύκλου, ο οποίος μπορεί να είναι αυτόματος ή εκ διακοπής της προγεστερόνης. Η συνηθέστερη αρχικά χορηγούμενη δόση στις περισσότερες γυναίκες είναι τα 50 mg/ημέρα. Υψηλότερες δόσεις έχουν



χρησιμοποιηθεί από πολλούς κλινικούς, όταν οι χαμηλότερες δόσεις αποτυγχάνουν να προκαλέσουν ωοθυλακιόρρηξια. Αν και η ορμονική απάντηση στη θεραπεία ποικίλει, γενικά παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της FSH και της LH κατά την περίοδο της χορήγησής της. Η μη ενιαία απάντηση των γοναδοτροπινών στην χορήγηση της κλομιφαίνης ίσως να οφείλεται στην πολυπλοκότητα του υποθάλαμο-υποφύσιο-γοναδικού άξονα και στις ποικίλες μορφές της ανωοθυλακιόρρηκτικής δυσλειτουργίας.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η κλομιφαίνη ασκεί τη δράση της δεν είναι απόλυτα κατανοητός και αναμφίβολα υπάρχουν πολύπλοκοι μηχανισμοί, μέσω των οποίων ασκούν τη δράση τους οι ενδογενείς ορμόνες. Η πιο συνήθης εξήγηση βασίζεται πάνω στις αντιστρογονικές ιδιότητες του φαρμάκου και εστιάζεται στην ικανότητα της κλομιφαίνης να συνδέεται με τους ιστρογονικούς υποδοχείς και να εμποδίζει την αρνητική παλίνδρομη δράση που τα ιστρογόνα ασκούν στον υποθάλαμο και στην υπόφυση (Clark et al., 1982).

Η αδυναμία κατάδειξης ύπαρξης ιστρογονικών υποδοχέων μέσα στους νευρώνες από τους οποίους εκλύεται η GnRH συνηγορεί υπέρ του ότι ίσως οι νευρώνες-στόχοι να είναι μη-GnRH, αλλά κατεχολαμινεργικοί. Η κλομιφαίνη δρώντας ως αντιστρογόνο πιστεύεται πως αντικαθιστά τα ενδογενή ιστρογόνα από τα σημεία του υποθαλάμου, που αυτά συνδέονται με τους ιστρογονικούς υποδοχείς. Το γεγονός αυτό, από άποψη λειτουργίας του υποθαλάμου, έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση των αρνητικών παλίνδρομων σημάτων που ασκούν τα ενδογενή ιστρογόνα στον υποθάλαμο με συνέπεια προφανώς τη μεταβολή στα χαρακτηριστικά της έκκρισης της GnRH. Αυτή η μεταβολή στα χαρακτηριστικά έκκρισης της GnRH οδηγεί σε «ομαλοποίηση» της απελευθέρωσης των γοναδοτροπινών από την υπόφυση που συνεπάγεται την επιλογή, κυριαρχία και τελικά την ρήξη του επιλεγμένου ωοθυλακίου (Adashi E.Y., 1984). Οι Miyake et al. (1983) σε μία πειραματική μελέτη με υποθαλάμους και υποφύσεις αρουραίων έδειξαν πως: α) η κλομιφαίνη προκαλεί απελευθέρωση της GnRH από τον μεσοβασικό πυρήνα του υποθαλάμου, η οποία μπορεί να επάγει την έκλυση της

LH κατά ένα μέρος, δρώντας απευθείας στο επίπεδο της υπόφυσης και β) οι μεταβολές στην LH μετά τη χορήγηση της κλομιφαίνης συμβαίνουν ταυτόχρονα με την έκλυση της GnRH.

Κατά τους Clark et al. (1982) και ο υποθάλαμος και η υπόφυση είναι θέσεις, στις οποίες ασκεί τη δράση της η κλομιφαίνη. Κατά τους ίδιους συγγραφείς η εξήγηση του μηχανισμού της δράσης της με βάση τις αντιστρογονικές ιδιότητες, φαίνεται να έχει κάποια βάση, πάντως είναι ανεπαρκής και αγνοεί κάποια στοιχεία από τη βασική φαρμακολογία της κλομιφαίνης.

Κατά τους ίδιους συγγραφείς, μία άλλη θετική δράση της κλομιφαίνης είναι επίσης πιθανή στις γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Τα ωοθυλάκια στις γυναίκες αυτές συνθέτουν μεγάλες ποσότητες ανδροστενδιόνης, αλλά αποτυγχάνουν να μετατρέψουν την πρόδρομη αυτή ουσία σε οιστραδιόλη. Αν θεωρηθεί πως η κλομιφαίνη, υπό ορισμένες συνθήκες, έχει οιστρογονική δράση, ίσως να δρα απευθείας στο επίπεδο των ωοθηκών ως ένα οιστρογόνο. Η πιθανή οιστρογονική δράση της κλομιφαίνης ίσως να είναι η απαραίτητη προϋπόθεση για την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας σε αυτές τις ασθενείς.

Οι Taubert et al. (1976) έδειξαν πως υψηλές δόσεις αιθυνυλοιστραδιόλης χορηγούμενες από τη 10-17<sup>η</sup> ημέρα του κύκλου και όταν έχει προηγηθεί η χορήγηση κλομιφαίνης κατά την 5-9<sup>η</sup> ημέρα, δεν επηρέασαν την ικανότητα της κλομιφαίνης να προκαλέσει ωοθυλακιορρηξία.

Η αιθυνυλοιστραδιόλη είναι γνωστό πως έχει αρνητική παλίνδρομη δράση στην έκκριση των γοναδοτροπινών στον άνθρωπο. Οι Vaitukaitis et al. (1970) έδειξαν πως η κλομιφαίνη ανταγωνίζεται τα οιστρογόνα στους οιστρογονικούς υποδοχείς του υποθαλάμου και της υπόφυσης και έτσι εμποδίζει τη δράση της αιθυνυλοιστραδιόλης, υπό ορισμένες συνθήκες.

Το ότι η κλομιφαίνη φαίνεται να δρα μέσω της δέσμευσης των οιστρογονικών υποδοχέων του υποθαλαμου-υπόφυσιακού άξονα προκύπτει και από τη μελέτη των Messinis and Templeton (1988) οι οποίοι χορήγησαν σε 5 γυναίκες με φυσιολογική ωοθυλακιόρρηξία, κατά τη διάρκεια δύο κύκλων, 100mg κλομιφαίνης/ημέρα. Στη διάρκεια του πρώτου κύκλου η κλομιφαίνη χορηγήθηκε κατά τις ημέρες 2-6, ενώ στη διάρκεια του δεύτερου κύκλου κατά τις ημέρες 2-16. Οι συγγραφείς διαπίστωσαν πως κατά τη διάρκεια του πρώτου κύκλου τα επίπεδα της LH ήταν παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται στους αυτόματους κύκλους, η ενδογενής αιχμή της LH ήταν παρούσα σε όλες τις γυναίκες και διαπιστώθηκε φυσιολογική ωοθυλακιόρρηξία με φυσιολογική ωχρινική λειτουργία. Αντίθετα, κατά τη διάρκεια του δεύτερου κύκλου παρατηρήθηκε μία συνεχόμενη και προοδευτική άνοδος των επιπέδων της LH, χωρίς ενδογενή αιχμή, που είχε ως αποτέλεσμα την ωχρινοποίηση του ωοθυλακίου χωρίς ωοθυλακιόρρηξία.

Επίσης, είναι γνωστό πως η κλομιφαίνη καταστέλλει την έκκριση των γοναδοτροπινών στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ή στις γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε ωοθηκεκτομή (Czygan et al., 1972, Hashimoto et al., 1976, Ravid et al., 1977). Φαίνεται πως υπό ορισμένες συνθήκες η κλομιφαίνη δρα οιστρογονικά και μιμείται την αρνητική παλίνδρομη δράση που ασκούν τα οιστρογόνα στις γοναδοτροπίνες. Οι Czygan et al. (1972) παρατήρησαν πως σε μερικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων, η χορήγηση κλομιφαίνης προκαλούσε αύξηση των επιπέδων των γοναδοτροπινών, γεγονός που τους οδήγησε στο συμπέρασμα πως η δράση της κλομιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών εξαρτάται κυρίως από τα ενδογενή επίπεδα οιστρογόνων.

Η κλομιφαίνη, όπως και οι υπόλοιποι SERMs, έχει στον άνθρωπο τόσο οιστρογονική όσο και αντιοιστρογονική δράση. Επίσης, από τα παραπάνω διαπιστώνεται πως η αρνητική παλίνδρομη δράση της κλομιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών ασκείται, όταν η ουσία χορηγείται σε γυναίκες που

βρίσκονται στην εμμηνόπαυση ή έχουν υποβληθεί σε ωθηκεκτομή. Αντίθετα, στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας που τα επίπεδα των των ενδογενών οιστρογόνων είναι αυξημένα η χορήγηση της κλομιφαίνης προκαλεί άνοδο των επιπέδων των γοναδοτροπινών. Αυτές οι δύο υποθαλαμο-υποφυσιακές καταστάσεις είναι προφανώς μη συγκρίσιμες, σε ό,τι αφορά στον μηχανισμό δράσης της κλομιφαίνης. Έτσι, όταν σε μία μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα ή σε μία γυναίκα που έχει υποβληθεί σε ωθηκεκτομή χορηγηθούν οιστρογόνα ή κλομιφαίνη, σε άλλοτε άλλο βαθμό, προκαλείται μείωση των επιπέδων των γοναδοτροπινών. Όταν η κλομιφαίνη χορηγηθεί σε γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας, με φυσιολογικά επίπεδα οιστρογόνων, τότε προκαλεί αύξηση της έκκρισης των γοναδοτροπινών. Άρα, για να ασκήσει η κλομιφαίνη την οιστρογονική δράση της πάνω στην έκκριση των γοναδοτροπινών, απαιτείται η παρουσία βασικών επιπέδων οιστρογόνων (Hashimoto et al., 1976, Czygan et al., 1972, de Moura et al., 1992).

### **β. Η δράση της ταμοξιφαίνης.**

Η ταμοξιφαίνη χρησιμοποιείται σε περιορισμένη έκταση για την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας αφού δρα με τον ίδιο μηχανισμό με αυτόν της κλομιφαίνης, δηλαδή αντιοιστρογονικά στο επίπεδο του υποθαλάμου-υπόφυσης. Οι Messinis et al. (1982) χορήγησαν σε δύο ομάδες γυναικών με ανωοθυλακιορρηκτική υπογονιμότητα - εναλλασσόμενα τους διαφορετικούς μήνες αγωγής- ταμοξιφαίνη ή κλομιφαίνη για την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας και διαπίστωσαν πως στις υπό μελέτη γυναίκες η πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ αυτών που έλαβαν ταμοξιφαίνη ή κλομιφαίνη.

Σε μερικές μελέτες έχει φανεί πως η ταμοξιφαίνη προκαλεί ελάχιστη ή καμία αύξηση στα επίπεδα των γοναδοτροπινών, αν και μία άλλη μελέτη δείχνει πως η χορήγησή της προκάλεσε μεγάλη αύξηση στα επίπεδα της FSH και καμία μεταβολή στα επίπεδα της LH (Baker et al., 1995). Οι Jordan et al. (1991), διαπίστωσαν πως η ταμοξιφαίνη δεν επηρέασε τα επίπεδα των γοναδοτροπινών

σε μία ομάδα γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας με καρκίνο του μαστού, που λάμβανε το φάρμακο σαν συμπληρωματική θεραπεία.

Οι Lonning et al. (1995) που μελέτησαν τις μεταβολές στο ορμονικό προφίλ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με καρκίνο του μαστού, πριν και μετά τη χορήγηση ταμοξιφαίνης, διαπίστωσαν πως η ταμοξιφαίνη προκάλεσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό πτώση των επιπέδων της FSH και της LH σε ποσοστό 45.5% και 48.1%, αντίστοιχα

#### **γ. Η δράση της ραλοξιφαίνης.**

Τα περισσότερα στοιχεία που έχουμε για τη δράση της ραλοξιφαίνης πάνω στο υποθαλαμο-υποφυσιακό σύστημα, προέρχονται από πειραματικές μελέτες σε ζώα.

Οι Clemens et al. (1983) χορήγησαν οιστραδιόλη σε αρουραίους που είχαν υποβληθεί σε ωθηκεκτομία, η οποία προκάλεσε μείωση των πρωινών και αύξηση των απογευματινών επιπέδων της LH. Η προσθήκη ραλοξιφαίνης εμπόδισε την πρωινή πτώση των επιπέδων της LH, που προκάλεσε η οιστραδιόλη, ενώ δεν εμπόδισε την απογευματινή άνοδο αυτών. Οι Simard et al. (1985) διαπίστωσαν πως η προσθήκη ραλοξιφαίνης σε καλλιέργειες κυττάρων από την πρόσθια υπόφυση αρουραίων, τα οποία είχαν επωαστεί προηγουμένως με οιστραδιόλη, εμπόδισε την αύξηση τόσο της βασικής όσο και της μετά από χορήγηση GnRH αύξηση της απελευθέρωσης της LH, που προκάλεσε φυσιολογικά η χορήγηση οιστραδιόλης.

Τόσο τα παραπάνω ευρήματα όσο και αυτά της μελέτης των Ortmann et al. (1988) που επίσης χρησιμοποίησαν καλλιέργειες κυττάρων από την πρόσθια υπόφυση ωθηκεκτομηθέντων αρουραίων, δείχνουν πως η ραλοξιφαίνη ασκεί αντιοιστρογονική δράση στα γοναδοτρόπα κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσης των αρουραίων, όταν συνυπάρχει οιστρογονικό περιβάλλον.

Επίσης, σε μία *in vitro* μελέτη βρέθηκε πως η ραλοξιφαίνη ασκεί σε κύτταρα του υποθαλάμου, τα οποία έχουν επωαστεί προηγουμένως για δύο ημέρες με οιστραδιόλη, μείωση των υποδοχέων της προγεστερόνης, δράση που χαρακτηρίζεται από τους συγγραφείς ως αντιοιστρογονική (Fitzpatrick et al., 1999).

Σε μία πιο πρόσφατη μελέτη, οι Pinilla et al. (2001) χορήγησαν ραλοξιφαίνη σε αρουραίους οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε ωθηκεκτομή και εξέτασαν τη δράση της στην υποθαλαμο-υποφυσιακή μονάδα. Διαπίστωσαν πως η ραλοξιφαίνη ανέστειλε την υπερέκκριση της LH, που παρατηρείται στους ωθηκεκτομηθέντες αρουραίους και αύξησε την έκκριση της PRL. Και τα δύο αυτά ευρήματα είναι ενδεικτικά μίας οιστρογονικής δραστηριότητας της ραλοξιφαίνης, όσον αφορά στην έκκριση της LH και της PRL σε ωθηκεκτομηθέντες θήλεις αρουραίους.

Για τη δράση της ραλοξιφαίνης στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας υπάρχει μόνο μία σχετική μελέτη των Baker et al. (1998). Κατά τη μελέτη αυτή χορηγήθηκε ραλοξιφαίνη σε δύο ομάδες γυναικών, που σε προηγούμενους κύκλους είχαν διαπιστωμένα φυσιολογική ωοθυλακιορρηξία. Στη μία ομάδα η ραλοξιφαίνη χορηγήθηκε για χρονικό διάστημα 5 ημερών κατά την ωοθυλακική, ή την περιωοθυλακιορρηκτική φάση και στην άλλη ομάδα για χρονικό διάστημα 28 ημερών, σε δύο διαφορετικές δόσεις και μελετήθηκε η δράση της στο ορμονικό προφίλ και στο ενδομήτριο. Οι συγγραφείς καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η ραλοξιφαίνη στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας φαίνεται να έχει οιστρογονική δράση όσον αφορά στη σύνθεση της SHBG από το ήπαρ και αντιοιστρογονική δράση στον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση, η οποία δεν αναστέλλει την ωοθυλακιορρηξία. Πιο συγκεκριμένα, σε ό,τι αφορά στο ορμονικό προφίλ των υπό μελέτη γυναικών, η ραλοξιφαίνη φάνηκε να αυξάνει ή να αφήνει αμετάβλητα τα επίπεδα της FSH και να μειώνει σε ορισμένες περιπτώσεις τα επίπεδα της PRL, δράσεις που



αμφότερες συνηγορούν υπέρ μίας αντιοιστρογονικής δράσης στο επίπεδο του υποθαλάμου και της υπόφυσης.

Πρόσφατα δημοσιεύτηκαν δύο μελέτες (Reindollar et al., 2002 και Lasco et al., 2002), οι οποίες εστίασαν στην επίδραση της ραλοξιφαίνης στα βασικά επίπεδα των γοναδοτροπινών ορμονών ενώ η μία μελέτησε και τη δράση της στην έκκριση της προλακτίνης στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Και στις δύο μελέτες συμμετείχαν μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι οποίες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Στη μία ομάδα οι γυναίκες λάμβαναν για θεραπεία οστεοπόρωσης ραλοξιφαίνη 60mg/ημέρα για 3-6 μήνες, ενώ η άλλη ομάδα χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου. Η μία μελέτη (Reindollar et al., 2002) διαπίστωσε πως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μετά από 3 μήνες χορήγησης ραλοξιφαίνης υπήρξε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων της SHBG (sex hormone binding globulin) και της TBG (thyroxine-binding globulin), ενώ τα επίπεδα της FSH μειώθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ( $P=0.019$ ). Η άλλη μελέτη (Lasco et al., 2002) καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η ραλοξιφαίνη χορηγούμενη για χρονικό διάστημα 6 μηνών στην παραπάνω δόση δεν προκάλεσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταβολή των επιπέδων της FSH και της LH, ενώ προκάλεσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό πτώση των επιπέδων της προλακτίνης.

Ο ιδανικός SERM θα ήταν αυτός που θα συνδύαζε όλες τις ευεργετικές ιδιότητες των οιστρογόνων και θα στερούσαν πλήρως των παρενεργειών, που τα οιστρογόνα έχουν, όπως αύξηση της προδιάθεσης για θρόμβωση και αύξηση της επίπτωσης καρκίνου του μαστού. Ωστόσο ο ιδανικός SERM προς το παρόν δεν υπάρχει και ο τρόπος που αυτές οι φαρμακευτικές ουσίες δρουν δεν είναι απόλυτα κατανοητός. Η ανακάλυψη και του δεύτερου οιστρογονικού υποδοχέα ( $\beta$ ) μάλλον περιέπλεξε την κατανόηση του μηχανισμού δράσης των SERMs. Επίσης, η διαπίστωση πως τα οιστρογόνα δρουν σε μερικούς ιστούς, όπως είναι το ωριμάζων ανθρώπινο ωοκύτταρο και κάποιοι υποθαλαμικοί νευρώνες (Tesarik and Mendoza, 1995, Cambiasso et al., 2001) και μέσω μηχανισμών στους οποίους δεν συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς μας υποχρεώνει να

διερευνήσουμε αν και οι SERMs ασκούν -και κατά πόσο- τη δράση τους μέσω των μηχανισμών αυτών. Ειδικότερα, για τον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα δεν είναι γνωστό αν λειτουργούν μηχανισμοί στους οποίους δε συμμετέχουν οι πυρηνικοί οιστρογονικοί υποδοχείς.

Η κλομιφαίνη και η ραλοξιφαίνη είναι δύο από τους SERMs που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη και ανήκουν στην κατηγορία του τριφαινυλαιθυλενίου και βενζοθειοφαινών αντίστοιχα. Μέχρι σήμερα σε διάφορες μελέτες έχει παρατηρηθεί διαφορά στη δράση των δύο αυτών παραγόντων σε διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανωμένων του ενδομητρίου και των οστών (Cano and Hermenegildo, 2000, Diez J.L, 2000). Θα ήταν λοιπόν ενδιαφέρον να γνωρίζουμε αν αυτοί οι δύο παράγοντες έχουν διαφορετική δράση και σε ό,τι αφορά στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Αυτό πρώτον θα βοηθήσει στην περαιτέρω διαφοροποίηση των ουσιών αυτών σαν θεραπευτικούς παράγοντες στην κλινική πράξη και δεύτερον η μελέτη της δράσης τους πάνω στο υποθαλαμο-υποφυσιακό σύστημα θα βοηθήσει περαιτέρω στην κατανόηση των μηχανισμών, που ρυθμίζουν την έκκριση των γοναδοτροπινών. Επιπλέον, μέχρι σήμερα δεν έχει μελετηθεί η δράση της ραλοξιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών, ύστερα από διέγερση με GnRH.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν να διερευνήσει τη δράση της ραλοξιφαίνης και της κλομιφαίνης στη βασική και κατόπιν διεγέρσεως με GnRH, έκκριση των γοναδοτροπινών στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ώστε να κατανοηθεί επιπλέον ο ρόλος που παίζουν οι οιστρογονικοί μηχανισμοί στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα.



## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Συνολικά μελετήθηκαν 16 υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 56-60 ετών που βρισκόταν στην εμμηνόπαυση από 5-10 χρόνια. Οι γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες (Α και Β) των 8 γυναικών η καθεμία. Και στις δύο ομάδες οι γυναίκες μελετήθηκαν σε δύο χρονικές περιόδους των 30 ημερών η κάθε μία, με μεσοδιάστημα ενός μήνα μεταξύ των δύο χρονικών περιόδων, κατά το οποίο οι υπό μελέτη γυναίκες δεν έλαβαν καμία αγωγή. Οι δύο χρονικές περίοδοι που οι γυναίκες και των δύο ομάδων (Α και Β) έλαβαν τις δύο διαφορετικές αγωγές χαρακτηρίστηκαν ως R-Exp ή Cl-Exp, όταν στην αγωγή των γυναικών συμπεριλαμβανόταν η ουσία ραλοξιφαίνη (R) ή κλομιφαίνη (Cl), αντίστοιχα.

Στην ομάδα Α, στη μία χρονική περίοδο (R-Exp), χορηγήθηκαν στις γυναίκες 180mg raloxifene (Evista 60mg, Eli Lilly) ημερησίως για 30 ημέρες (ημέρες 1-30), ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε και οιστραδιόλη διαδερμικά με τη μορφή αυτοκόλλητων ετικετών (Estraderm TTS 100mcg, Novartis), μία ετικέτα ανά τριήμερο. Στην άλλη χρονική περίοδο (Cl-Exp) χορηγήθηκαν για 30 ημέρες (ημέρες 1-30) 150mg clomiphene citrate ημερησίως (clomiphene citrate 50 mg, Anfarm), ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε και πάλι οιστραδιόλη με την ίδια μορφή και στην ίδια δόση, όπως παραπάνω.

Στην ομάδα Β των γυναικών στη μία χρονική περίοδο (R-Exp) χορηγήθηκε για 30 ημέρες (ημέρες 1-30) οιστραδιόλη, με την ίδια μορφή και στην ίδια δόση όπως στην ομάδα Α, ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε raloxifene, 180mg ημερησίως. Στην άλλη χρονική περίοδο (Cl-Exp), στην ίδια ομάδα, χορηγήθηκε επίσης για 30 ημέρες (ημέρες 1-30) οιστραδιόλη με την ίδια μορφή και δόση όπως παραπάνω, αλλά τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε clomiphene 150 mg ημερησίως. Οι αιμοληψίες γίνονταν πάντοτε

μεταξύ των ωρών 16.00 -19.00, επειδή πολλές από τις γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν εργαζόμενες. Η πρώτη αυτοκόλλητη ετικέτα E2 τοποθετήθηκε μετά το τέλος των αιμοληψιών της ημέρας 0 (H0). Η τελευταία δόση R ή CI χορηγήθηκε το μεσημέρι της ημέρας 30 (H30) και της E2 το πρωί της ημέρας 30.

Και στις δύο χρονικές περιόδους της μελέτης αυτής, στις ομάδες A και B χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως κατά τις ημέρες (H) 0, 10, 20 και 30, 100μg GnRH (Relefact LH-RH 0,1mg, Hoechst). Δείγματα αίματος σε σχέση με την χορήγηση της GnRH (χρονική στιγμή 0 min) ελήφθησαν τις χρονικές στιγμές (T) -15, 0, 30, 60, 90 και 120 min.

Από τις 8 γυναίκες της κάθε ομάδας οι 4 ξεκίνησαν πρώτα με την R-Exp και ακολούθησε η περίοδος της CI-Exp ενώ οι άλλες 4 ξεκίνησαν πρώτα με την περίοδο της CI-Exp και ακολούθησε η περίοδος της R-Exp.

## ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Στον Πίνακα I δίνονται τα κλινικά και ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών των δύο ομάδων, τα οποία δεν διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταξύ τους σε ό,τι αφορούσε στην ηλικία, τον δείκτη μάζας σώματος (BMI) και το χρονικό διάστημα που βρισκόταν στην εμμηνόπαυση. Η μέση ηλικία των γυναικών της ομάδας A ήταν 58.12 έτη, ενώ της ομάδας B ήταν 58.37 έτη ( $P=0.685$ ). Η μέση τιμή του δείκτη BMI για τις γυναίκες της ομάδας A ήταν 25.05, ενώ της ομάδας B ήταν 24.31 ( $P=0.346$ ). Τέλος στην ομάδα A η μέση χρονική διάρκεια σε έτη από την τελευταία έμμηνο ρύση ήταν 7.1, ενώ η αντίστοιχη τιμή της ομάδας B ήταν 7.0 ( $P=0.84$ ). Όλες οι γυναίκες της μελέτης δεν είχαν λάβει κατά τους 6 μήνες πριν από τη συμμετοχή τους στη μελέτη κανένα ορμονικό σκεύασμα, ούτε κατά τη διάρκεια της υπό μελέτη περιόδου έλαβαν κάποιο άλλο ορμονικό ιδιοσκεύασμα, πέρα από αυτό που αφορούσε την έρευνα.

**Πίνακας I:** Κλινικά και ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών των δύο Ομάδων (mean ±SEM).

	<b>ΟΜΑΔΑ Α</b>	<b>ΟΜΑΔΑ Β</b>	<b>P</b>
<b>ΗΛΙΚΙΑ</b>	58,1±0,6	58,3±0,4	0,68
<b>ΔΕΙΚΤΗΣ ΒΜΙ</b>	25,0±0,4	24,3±0,4	0,34
<b>ΕΤΗ ΣΕ ΕΜΜΗΝ/ΣΗ</b>	7,1±0,6	7,0±0,5	0,84
<b>ΕΠΙΠΕΔΑ FSH</b>	65,1±9,8	76,9±10,7	0,43
<b>ΕΠΙΠΕΔΑ LH</b>	37,5±6,2	47,8±7,3	0,30
<b>ΕΠΙΠΕΔΑ E2</b>	86,8±18,9	56,1±13,6	0,21

### **ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗ – ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ.**

Η συμμόρφωσή τους σε ό,τι αφορούσε στη λήψη των δισκίων ( raloxifene, clomiphene) ή την τοποθέτηση των αυτοκόλλητων ετικετών οιστραδιόλης σύμφωνα με το πρωτόκολλο, ελεγχόταν συστηματικά. Τόσο στα μεσοδιαστήματα μεταξύ των αιμοληψιών όσο και νωρίς το μεσημέρι πριν τις αιμοληψίες γινόταν τηλεφωνική επικοινωνία με τις υπό μελέτη γυναίκες για να διαπιστωθεί αν η λήψη των φαρμάκων είχε γίνει όπως όριζε το πρωτόκολλο και αν κάποια γυναίκα είχε εμφανίσει κάποια παρενέργεια οφειλόμενη στα φάρμακα που χορηγούνταν.

Η συχνότερα παρατηρηθείσα παρενέργεια ήταν ένα ερύθημα συνοδευόμενο από κνησμό, που εμφανιζόταν σε μερικές γυναίκες στο σημείο του δέρματος που τοποθετούσαν την αυτοκόλλητη ετικέτα, που περιείχε την οιστραδιόλη. Μία μόνο από τις υπό μελέτη γυναίκες εμφάνισε κατά την περίοδο που λάμβανε τη ραλοξιφαίνη οπισθότονο στην περιοχή της οσφυϊκής χώρας, η

οποία θα μπορούσε να αποδοθεί στο φάρμακο αυτό και συμπεριλαμβάνεται στις παρενέργειες. Ευτυχώς ο οπισθότονος αυτός ήταν καλά ανεκτός και δεν αποτέλεσε αιτία, ώστε η γυναίκα αυτή να αποχωρήσει από τη μελέτη. Συμπερασματικά, η συμμόρφωση των γυναικών στην αγωγή, που έπρεπε να ακολουθήσουν κατά το πρωτόκολλο, ήταν πάρα πολύ καλή.

Και οι 16 γυναίκες ενημερώθηκαν για τη φύση της μελέτης, συμμετείχαν σε αυτή εθελοντικά και έδωσαν την έγκρισή τους. Εξηγήθηκε αναλυτικά πως σκοπός της μελέτης ήταν η επίδραση της ραλοξιφαίνης στα επίπεδα των γοναδοτροπινών των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, υπό την παρουσία ή όχι οιστρογόνων. Εξηγήθηκε επίσης πως η ένδειξη των δύο από τις φάρμακευτικές ουσίες που θα λάμβαναν (ραλοξιφαίνη, οιστραδιόλη) ήταν η πρόληψη ή η θεραπεία της οστεοπόρωσης, ενώ το τρίτο, η κλομιφαίνη, αποτελεί θεραπεία ρουτίνας σε γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας με προβλήματα υπογονιμότητας.

Τα δείγματα αίματος αμέσως μετά το πέρας της κάθε αιμοληψίας υποβάλλονταν σε φυγοκέντρηση και ο υπερκείμενος ορός συλλεγόταν με τη βοήθεια πιπετών σε ξεχωριστά φιαλίδια, τα οποία χαρακτηρίζονταν με κωδικούς και τοποθετούνταν προς φύλαξη σε ειδικά ψυγεία στους  $-21^{\circ}$  C μέχρι να πραγματοποιηθούν οι μετρήσεις των επιπέδων των τεσσάρων ορμονών (LH, FSH, PRL και E2). Συνολικά αναλύθηκαν 768 δείγματα και έγιναν 3072 μετρήσεις.

Η φυγοκέντρηση των δειγμάτων αίματος γινόταν αφού πρώτα είχε σχηματιστεί στο σωληνάριο πλήρης θρόμβος, ώστε να μην υπήρχε στο υπό εξέταση δείγμα ινική, η οποία θα μπορούσε να επηρεάσει τις τιμές των αποτελεσμάτων. Επίσης όλες οι μετρήσεις γινόνταν σε χρονικό διάστημα μικρότερο των τριών ωρών από την στιγμή της τοποθέτησής τους στο σύστημα AxSYM, ώστε να ελαχιστοποιηθούν πιθανά σφάλματα στις μετρήσεις, οφειλόμενα στην εξάτμιση.

## ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΡΜΟΝΩΝ

Τα επίπεδα των ορμονών LH, FSH, PRL και E2 στον ορό του αίματος των υπό μελέτη γυναικών προσδιορίστηκαν ανοσοενζυμικά με την τεχνική των μικροσωματιδίων (microparticle enzyme immunoassay, MEIA) στον αυτόματο ανοσοενζυμικό αναλυτή AxSYM/Abbott και χρησιμοποιώντας τα αντίστοιχα αντιδραστήρια (AxSYM FSH Kit, AxSYM LH Kit, AxSYM Prolactin Kit και AxSYM Estradiol Kit, αντίστοιχα), Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA. Τα αποτελέσματα για την FSH και την LH εκφράστηκαν σε mIU/ml, για την PRL σε ng/ml και για την E2 σε pmol/l. Η ευαισθησία των μεθόδων (lower limit of detection) ήταν 0.37 mIU/l για την FSH, 0.50 mIU/l για την LH 0.6ng/ml για την προλακτίνη και 73pmol/l για την οιστραδιόλη. Ο συντελεστής διακύμανσης για μετρήσεις σε σειρά (intra-assay) και μετρήσεις σε τυχαία σειρά (inter-assay) ήταν αντίστοιχα 3.2% και 4.1% για την FSH, 2.6% και 4.2% για την LH, 4.1% και 6.2% για την PRL και 2.3% και 5.5% για την E2.

## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων, τα οποία συγκεντρώθηκαν από τη μελέτη των ασθενών και των δύο ομάδων, έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 10.0 (Statistical Package for Social Sciences). Για τις μεταβλητές που μελετήθηκαν εκτιμήθηκαν οι μέσες τιμές  $\pm 1$  τυπικό σφάλμα (mean  $\pm$  SEM). Για τον έλεγχο της κανονικότητας της κατανομής των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Shapiro-Wilks. Η στατιστική διερεύνηση για την ισότητα των μέσων τιμών δύο ανεξάρτητων δειγμάτων έγινε με τη χρησιμοποίηση του ελέγχου Student's t-test, ενώ για μέσες τιμές που προέρχονται από δείγματα που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή

χρησιμοποιήθηκε ο μη παραμετρικός έλεγχος Mann-Whitney test, και για συσχετισμένα δείγματα χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Student's t-test για παρατηρήσεις κατά ζεύγη ή η μη παραμετρική δοκιμασία Wilcoxon Signed Ranks test, αντίστοιχα. Όλοι οι έλεγχοι ήταν δίπλευροι και τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν ως στατιστικά σημαντικά για τιμές  $P < 0,05$ .

Για τη σύγκριση των μέσων τιμών των διαφόρων παραμέτρων κατά τις διαφορετικές δειγματοληψίες στους ασθενείς της ίδιας ομάδας, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (ANOVA for repeated measures), ενώ για τον προσδιορισμό της αλληλεπίδρασης μεταξύ των μηνών θεραπείας και των διαφορετικών δειγματοληψιών χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διασποράς (για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις) με δύο παράγοντες. Η ανάλυση διασποράς για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις κατά Friedman χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωση μη κανονικών συσχετισμένων δειγμάτων. Στη συνέχεια, ο έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων, για τη στατιστική αξιολόγηση της διαφοράς των μέσων τιμών κατά ζεύγη, έγινε με τον έλεγχο Student's t-test για εξαρτημένα δείγματα ή τη δοκιμασία Wilcoxon Signed Ranks test, με διορθωμένο επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.1$ , σύμφωνα με τη διόρθωση κατά Bonferroni.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι βασικές τιμές των ορμονών υπολογίστηκαν ως ο μέσος όρος των τιμών κατά τις χρονικές στιγμές  $-15$  και  $0$  min. Η απάντηση της LH και της FSH στη GnRH υπολογίστηκε ως η αριθμητική αύξηση της LH ( $\Delta LH$ ) και της FSH ( $\Delta FSH$ ), πάνω από τη βασική τιμή. Από τις τιμές αυτές υπολογίστηκε στο σύνολο των 120 min η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (area under the curve, AUC) της LH και της FSH.

### 1. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ LH, FSH, PRL ΚΑΙ E2 ΣΤΗΝ ΟΜΑΔΑ Α

Στον **Πίνακα 1** αναγράφονται οι τιμές της βασικής έκκρισης (μέση τιμή  $\pm$  SEM) των ορμονών LH, FSH, PRL και E2 των γυναικών της Ομάδας Α, κατά τη διάρκεια της R-Exp και στον **Πίνακα 2** αναγράφονται οι τιμές της βασικής έκκρισης των ορμονών αυτών των γυναικών της Ομάδας Α, κατά τη διάρκεια της CI-Exp.

Κατά τη μελέτη κάθε ορμόνης χωριστά κατά τους δύο μήνες της αγωγής (R-Exp και CI-Exp) τα αποτελέσματα είχαν ως εξής.

**LH:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της ορμόνης LH στις ασθενείς της Ομάδας Α, κατά τη διάρκεια της R-Exp, ήταν κατά την H0  $37,5 \pm 6,2$  mIU/ml, κατά την H10  $34,7 \pm 6,6$  mIU/ml, κατά την H20  $37,2 \pm 5,8$  mIU/ml και κατά την H30  $36,1 \pm 5,6$  mIU/ml (Πίνακας 1).



**Πίνακας 1.** Τιμές (μέση τιμή ± SEM) βασικής έκκρισης των ορμονών LH, FSH, PRL και E2 στις γυναίκες της Ομάδας A κατά την R-Exp.

	Ημέρα				Τιμή P
	H0	H10	H20	H30	
<b>R-Exp</b>					
LH	37,6±6,2	34,7±6,6	37,2±5,8	36,1±5,7	0,718
FSH	65,2±9,8	62,6±9,7	66,1±10	64,2±10,5	0,641
PRL	14,9±3,9	15,8±3	15,5±4,4	18,3±6,3	0,655
E2	86±2,9	70±18,7	73,5±12,3	180,2±46	0,002

**Πίνακας 2.** Τιμές (μέση τιμή ± SEM) βασικής έκκρισης των ορμονών LH, FSH, PRL και E2 στις γυναίκες της Ομάδας A κατά την CI-Exp.

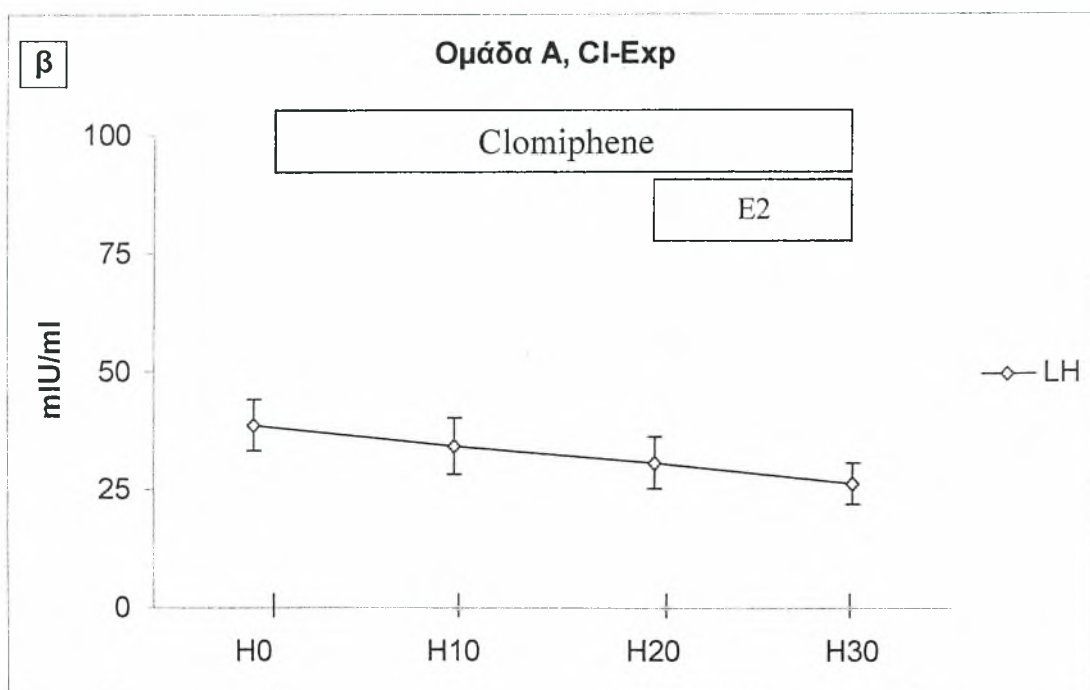
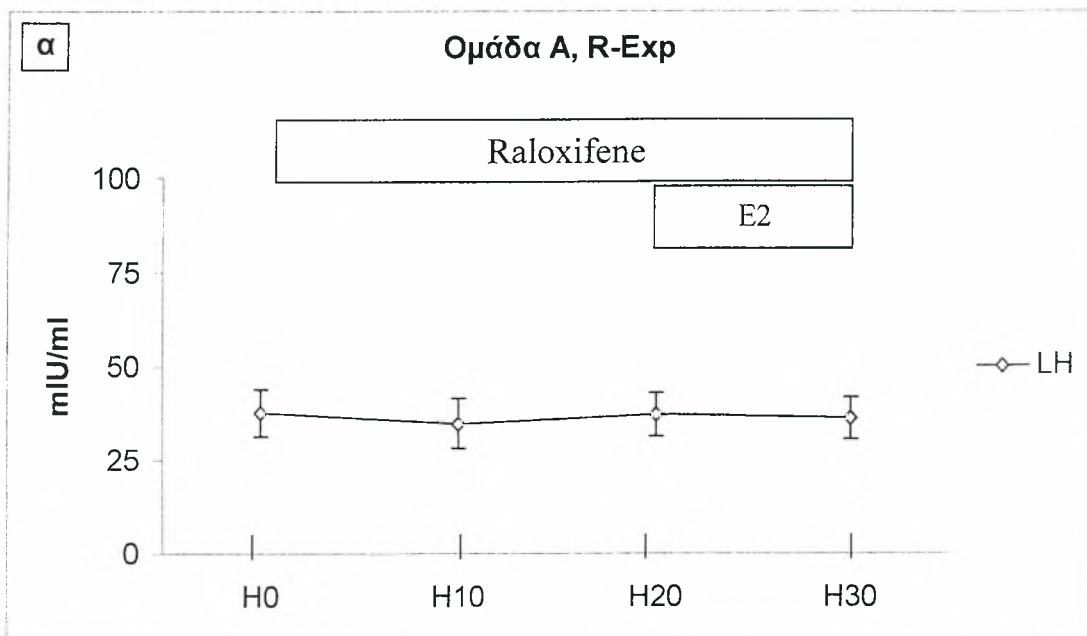
	Ημέρα				Τιμή P
	H0	H10	H20	H30	
<b>CI-Exp</b>					
LH	38,6±5,5	34,2±6	30,7±5,4	26,4±4,3	0,001
FSH	75,5±10,9	63,9±10,4	63,3±11,4	58,9±10,3	0,001
PRL	14,3±3,1	14,2±3,2	15,2±3,8	15,6±4,1	0,652
E2	60,6±13,8	58,9±18,3	61,5±7,5	210,2±35,3	0,008

Η ανάλυση διασποράς για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις έδειξε ότι δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της LH ( $F_{3,21}=0,452$ ,  $P=0,718$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις.

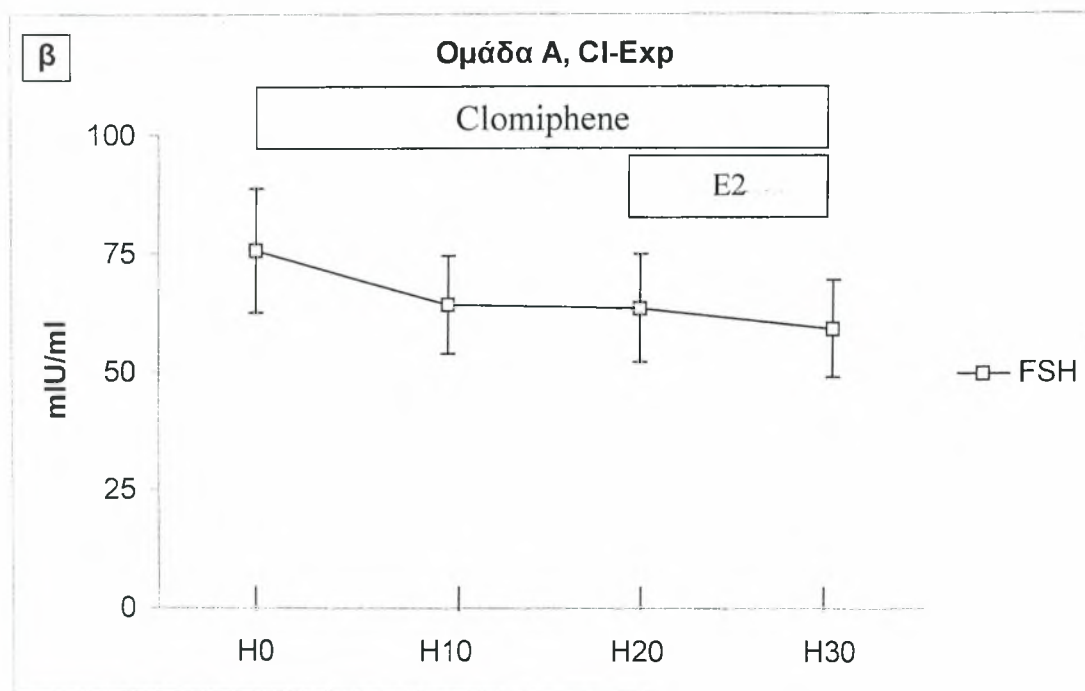
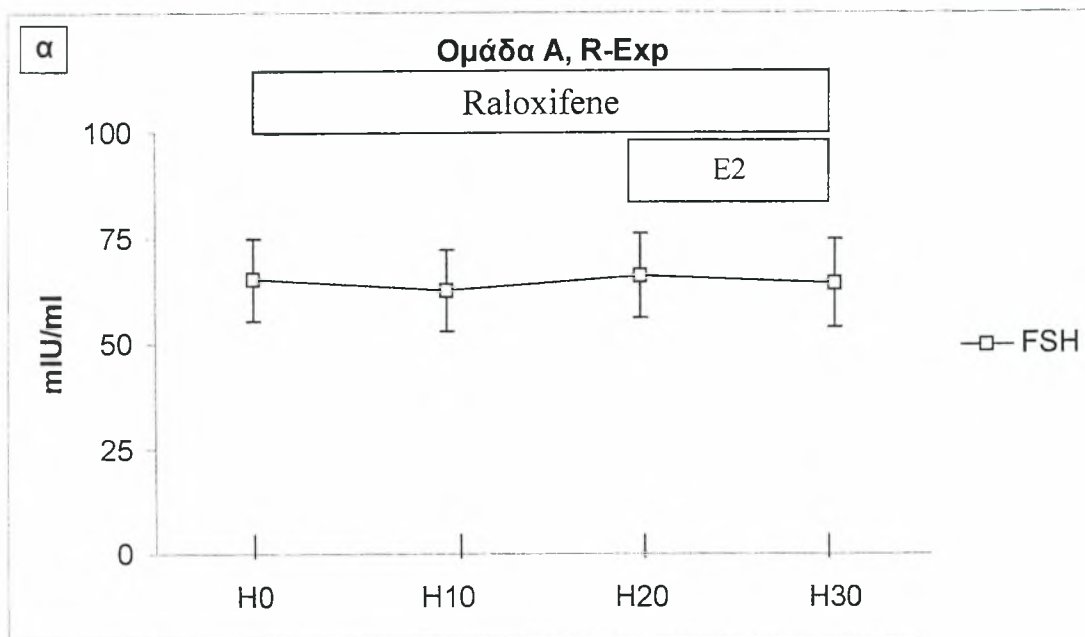
Κατά τη διάρκεια της CI-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της LH, στις ασθενείς της Ομάδας Α, ήταν κατά την H0  $38,5 \pm 5,5$  mIU/ml, κατά την H10  $34,2 \pm 6$  mIU/ml, κατά την H20  $30,7 \pm 5,4$  mIU/ml και κατά την H30  $26,3 \pm 4,3$  mIU/ml, (Πίνακας 2). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της LH ( $F_{3,21}=9,579$ ,  $P<0,001$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της LH κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μικρότερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10:  $P=,019$ , H20:  $P=0,011$  και H30:  $P=0,003$ ). Το **Σχήμα 1 (α και β)** απεικονίζει τα βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της LH των γυναικών της Ομάδας Α, κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp, αντίστοιχα.

**FSH:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της FSH στις ασθενείς της Ομάδας Α, κατά τη διάρκεια της R-Exp, ήταν κατά την H0  $65,1 \pm 9,8$  mIU/ml, κατά την H10  $62,5 \pm 9,7$  mIU/ml, κατά την H20  $66 \pm 10$  mIU/ml και κατά την H30  $64,1 \pm 10,5$  mIU/ml, (Πίνακας 1). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της FSH ( $F_{3,21}=0,570$ ,  $P=0,641$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις.

Κατά τη διάρκεια της CI-Exp, τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της FSH ήταν κατά την H0  $75,5 \pm 10,9$  mIU/ml, κατά την H10  $63,9 \pm 10,4$  mIU/ml, κατά την H20  $63,2 \pm 11,4$  mIU/ml και κατά την H30  $58,9 \pm 10,3$  mIU/ml, (Πίνακας 2). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της FSH ( $F_{3,21}=8,018$ ,  $P<0,001$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της FSH κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μικρότερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10:  $P=0,016$ , H20:  $P=0,024$  και H30:  $P=0,008$ ). Το **Σχήμα 2 (α και β)** απεικονίζει τα



**Σχήμα 1.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή ± SEM) της LH των γυναικών της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp και της Cl-Exp.



**Σχήμα 2.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της FSH των γυναικών της Ομάδας A κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp.

τα βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της FSH των γυναικών της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp, αντίστοιχα.

**PRL:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της PRL στις ασθενείς της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp, ήταν κατά την H0  $14,9\pm 3,9$  ng/ml, κατά την H10  $15,8\pm 3$  ng/ml, κατά την H20  $15,4\pm 4,4$  ng/ml και κατά την H30  $18,1\pm 6,3$  ng/ml, (Πίνακας 1). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της προλακτίνης ( $F_{3,21}=0,548$ ,  $P=0,655$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις.

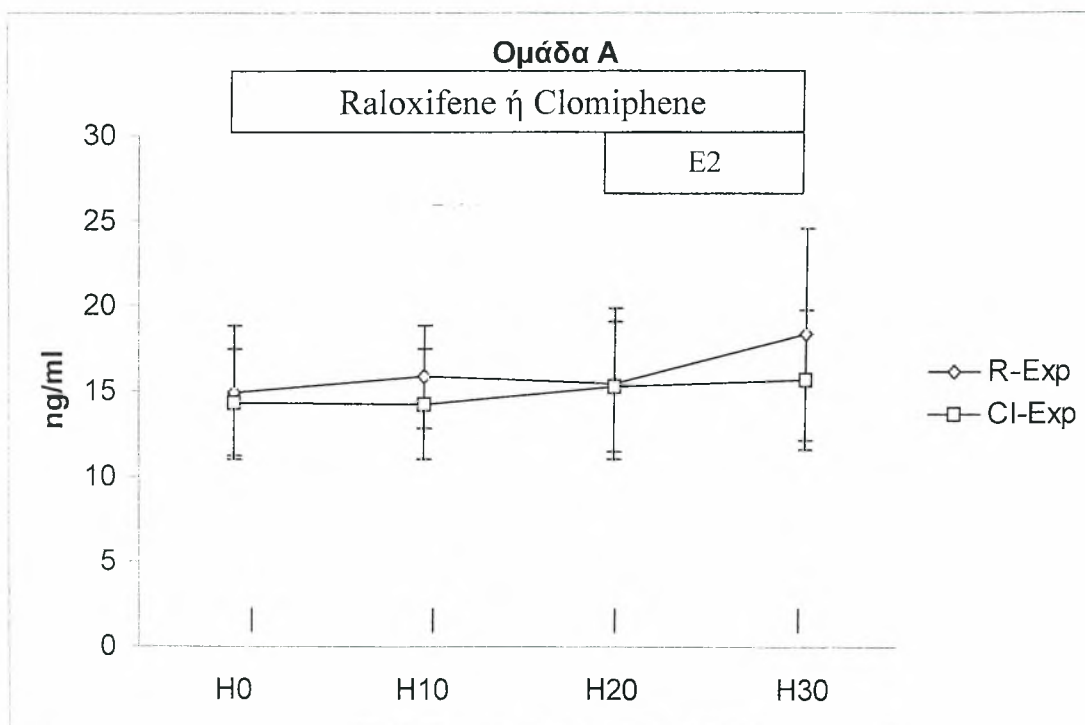
Κατά τη διάρκεια της CI-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της προλακτίνης στις ασθενείς της Ομάδας A, ήταν κατά την H0  $14,3\pm 3,1$  ng/ml, κατά την H10  $14,2\pm 3,2$  ng/ml, κατά την H20  $15,2\pm 3,8$  ng/ml και κατά την H30  $15,6\pm 4,1$  ng/ml, (Πίνακας 2). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της προλακτίνης ( $F_{3,21}=0,548$ ,  $P=0,652$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις.

Στο **Σχήμα 3** απεικονίζονται τα βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της προλακτίνης των γυναικών της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp και CI-Exp. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της R-Exp και της CI-Exp.

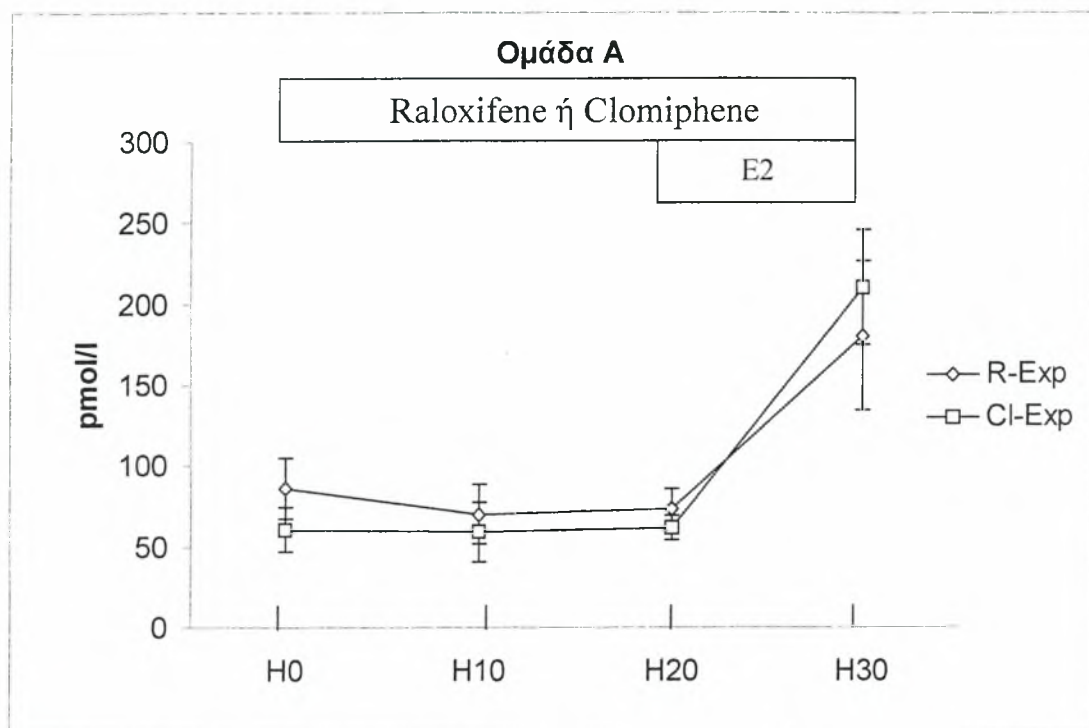
**E2:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της οιστραδιόλης στις ασθενείς της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp ήταν κατά την H0  $86\pm 18,9$  pmol/l, κατά την H10  $70\pm 18,7$  pmol/l, κατά την H20  $73,5\pm 12,3$  pmol/l και κατά την H30  $180,1\pm 46$  pmol/l, (Πίνακας 1). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της οιστραδιόλης (Friedman test,  $P=0,023$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της οιστραδιόλης κατά την H0, την H10 και την H20 ήταν σημαντικά μικρότερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H30 (H30 έναντι H0:  $P=0,034$ , H10:  $P=0,021$  και H20:  $P=0,037$ ).

Κατά τη διάρκεια της CI-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της οιστραδιόλης, στις ασθενείς της Ομάδας A, ήταν κατά την H0  $60,5 \pm 13,8$  pmol/l, κατά την H10  $58,9 \pm 18,3$  pmol/l, κατά την H20  $61,5 \pm 7,5$  pmol/l και κατά την H30  $210,2 \pm 35,3$  pmol/l, (Πίνακας 2). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της οιστραδιόλης (Friedman test,  $P=0,002$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της οιστραδιόλης κατά την H0, την H10 και την H20 ήταν σημαντικά μικρότερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H30 (H30 έναντι H0:  $P=0,012$ , H10:  $P=0,024$  και H20:  $P=0,008$ ).

Στο **Σχήμα 4** απεικονίζονται τα βασικά επίπεδα (mean  $\pm$  SEM) της E2 των γυναικών της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp και CI-exp. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της R-Exp και της CI-Exp.



**Σχήμα 3.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της προλακτίνης (PRL) των γυναικών της Ομάδας A, κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp.



**Σχήμα 4.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της οιστραδιόλης (E2) των γυναικών της Ομάδας Α κατά τη διάρκεια της R-Exp και της Cl-Exp.

## 2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ LH ΚΑΙ ΤΗΣ FSH ΣΤΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ R-EXP ΚΑΙ CL-EXP ΣΤΗΝ ΟΜΑΔΑ Α.

Συγκρίνοντας τις μεταβολές από μέτρηση σε μέτρηση των βασικών τιμών της LH μεταξύ των δύο πειραματικών περιόδων, παρατηρούμε ότι οι μεταβολές των τιμών της ορμόνης αυτής κατά την Cl-Exp ήταν μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες μεταβολές κατά την R-Exp. Πιο συγκεκριμένα, σημαντικά μεγαλύτερη μείωση των τιμών της LH παρατηρήθηκε από την H0 στην H30 της Cl-Exp έναντι της R-Exp (31,66% έναντι 4,02%,  $P=0,020$ ). Επίσης, από την H10 στην H30 της

CI-Exp παρατηρήθηκε μείωση των τιμών της LH κατά 23,04%, ενώ κατά το αντίστοιχο διάστημα της R-Exp οι τιμές της LH αυξήθηκαν κατά 3,91%, μεταβολές που διέφεραν μεταξύ τους στατιστικώς σημαντικά ( $P=0,017$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταβολών των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής κατά τις δύο πειραματικές περιόδους.

Συγκρίνοντας τις μεταβολές από μέτρηση σε μέτρηση των βασικών τιμών της FSH παρατηρούμε σημαντικά μεγαλύτερη μείωση των τιμών της FSH από την H0 στην H30 της CI-Exp έναντι της R-Exp (22,08% έναντι 1,52%,  $P=0,009$ ). Επίσης, από την H10 στην H30 της CI-Exp παρατηρήθηκε μείωση των τιμών της FSH κατά 16,29%, ενώ κατά το αντίστοιχο διάστημα της R-Exp οι τιμές της FSH αυξήθηκαν κατά 1,34%, μεταβολές που διέφεραν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικά ( $P=0,021$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταβολών των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής κατά τις δύο πειραματικές περιόδους.

### **3. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ LH, FSH, PRL ΚΑΙ E2 ΣΤΗΝ ΟΜΑΔΑ Β.**

Στον Πίνακα 3 αναγράφονται οι τιμές της βασικής έκκρισης (μέση τιμή  $\pm$  SEM) των LH, FSH, PRL και E2 των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και στον Πίνακα 4 αναγράφονται οι τιμές της βασικής έκκρισης των επιπέδων των ορμονών αυτών των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της R-Exp.



**Πίνακας 3.** Τιμές (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της βασικής έκκρισης των ορμονών LH, FSH, PRL και E2 στις γυναίκες της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp.

	Ημέρα				Τιμή P
	H0	H10	H20	H30	
<b>CI-Exp</b>					
<b>LH</b>	47,8 $\pm$ 7,3	39,2 $\pm$ 6,6	34,3 $\pm$ 5,4	34,1 $\pm$ 5,1	0,004
<b>FSH</b>	76,9 $\pm$ 10,7	58,2 $\pm$ 6	53,1 $\pm$ 7,4	54,9 $\pm$ 6,5	0,001
<b>PRL</b>	9,9 $\pm$ 1,8	12,7 $\pm$ 2,6	13,1 $\pm$ 2,3	8,3 $\pm$ 1,6	0,002
<b>E2</b>	56,1 $\pm$ 13,6	138,4 $\pm$ 24,3	160,8 $\pm$ 25	170,1 $\pm$ 34,4	0,02

**Πίνακας 4.** Τιμές (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της βασικής έκκρισης των ορμονών LH, FSH, PRL και E2, στις γυναίκες της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της R-Exp.

	Ημέρα				Τιμή P
	H0	H10	H20	H30	
<b>R-Exp</b>					
<b>LH</b>	48,1 $\pm$ 9,8	26,1 $\pm$ 3,5	32,1 $\pm$ 4,2	37 $\pm$ 6,2	0,01
<b>FSH</b>	77,7 $\pm$ 10,4	50,3 $\pm$ 6,2	47,7 $\pm$ 4,6	57,7 $\pm$ 6,4	0,001
<b>PRL</b>	12,2 $\pm$ 1,8	14,9 $\pm$ 2,5	12,3 $\pm$ 2,3	10,3 $\pm$ 1,5	0,125
<b>E2</b>	63,3 $\pm$ 19	160,4 $\pm$ 34,6	139,5 $\pm$ 26,8	141,4 $\pm$ 20,8	0,024

Κατά τη μελέτη κάθε ορμόνης χωριστά, κατά τους δύο μήνες της αγωγής (CI-Exp και R-Exp) τα αποτελέσματα είχαν ως εξής:

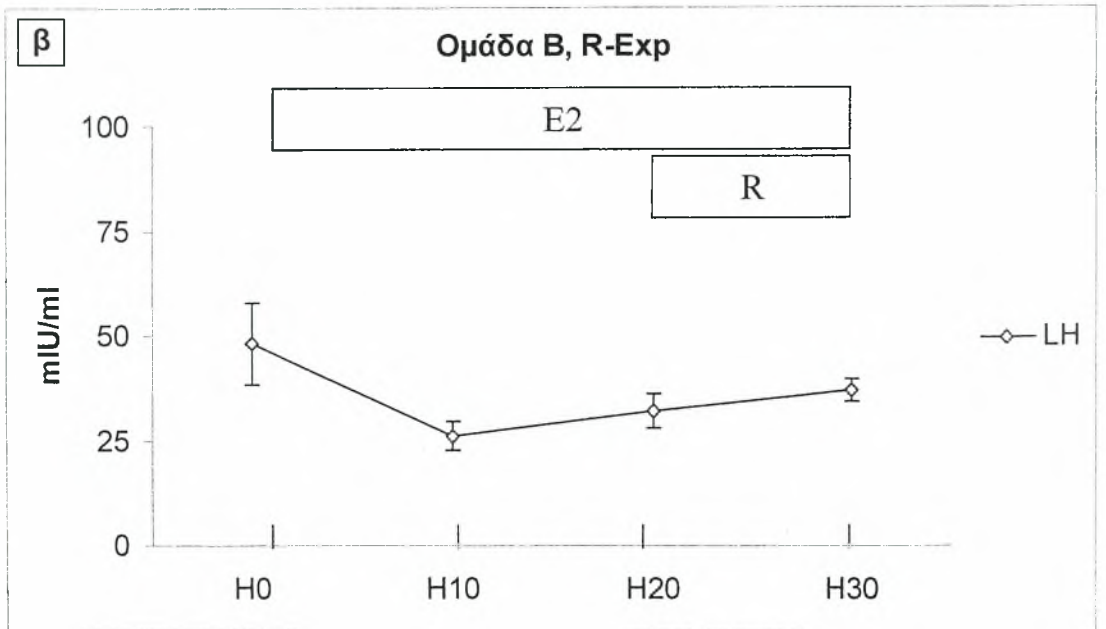
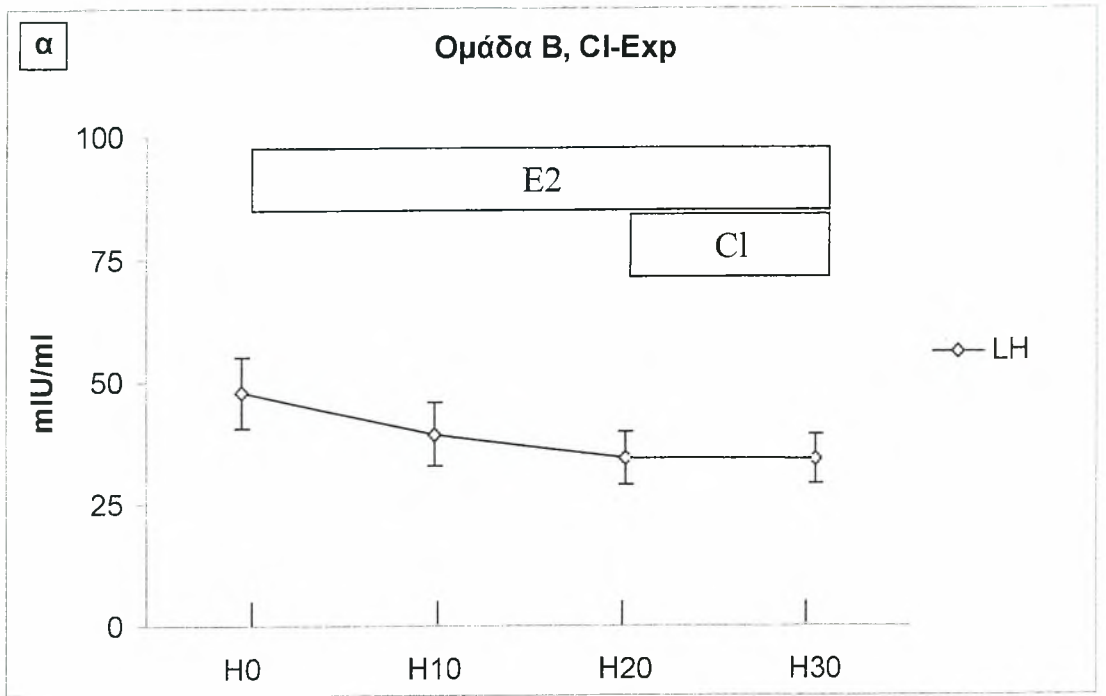
**LH:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της LH στις ασθενείς της Ομάδας Β, κατά τη διάρκεια της CI-Exp, ήταν κατά την H0 47,8 $\pm$ 7,3 mIU/ml, κατά την H10 39,2 $\pm$ 6,6 mIU/ml, κατά την H20 34,3 $\pm$ 5,4 mIU/ml και κατά την H30 34,1 $\pm$ 5,1

mIU/ml, (Πίνακας 3). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της LH ( $F_{3,21}=6,090$ ,  $P=0,004$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της LH κατά την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μικρότερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H20:  $P=0,009$  και H30:  $P=0,012$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.

Κατά τη διάρκεια της R-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της LH, στις ασθενείς της Ομάδας Β ήταν κατά την H0  $48,1\pm 9,8$  mIU/ml, κατά την H10  $26,1\pm 3,5$  mIU/ml, κατά την H20  $32,1\pm 4,2$  mIU/ml και κατά την H30  $37\pm 6,2$  mIU/ml, (Πίνακας 4). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της LH ( $F_{3,21}=4,886$ ,  $P=0,010$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασική τιμή της LH κατά την H10 ήταν σημαντικά μικρότερη από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 ( $P=0,014$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.

Το **Σχήμα 5 (α και β)** απεικονίζει τα βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της LH των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp, αντίστοιχα.

**FSH:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της FSH στις ασθενείς της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp, ήταν κατά την H0  $76,9\pm 10,7$  mIU/ml, κατά την H10  $58,2\pm 6,0$  mIU/ml, κατά την H20  $53,1\pm 7,4$  mIU/ml και κατά την H30  $54,9\pm 6,5$  mIU/ml, (Πίνακας 3). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της FSH ( $F_{3,21}=11,052$ ,  $P<0,001$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της FSH κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μικρότερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά



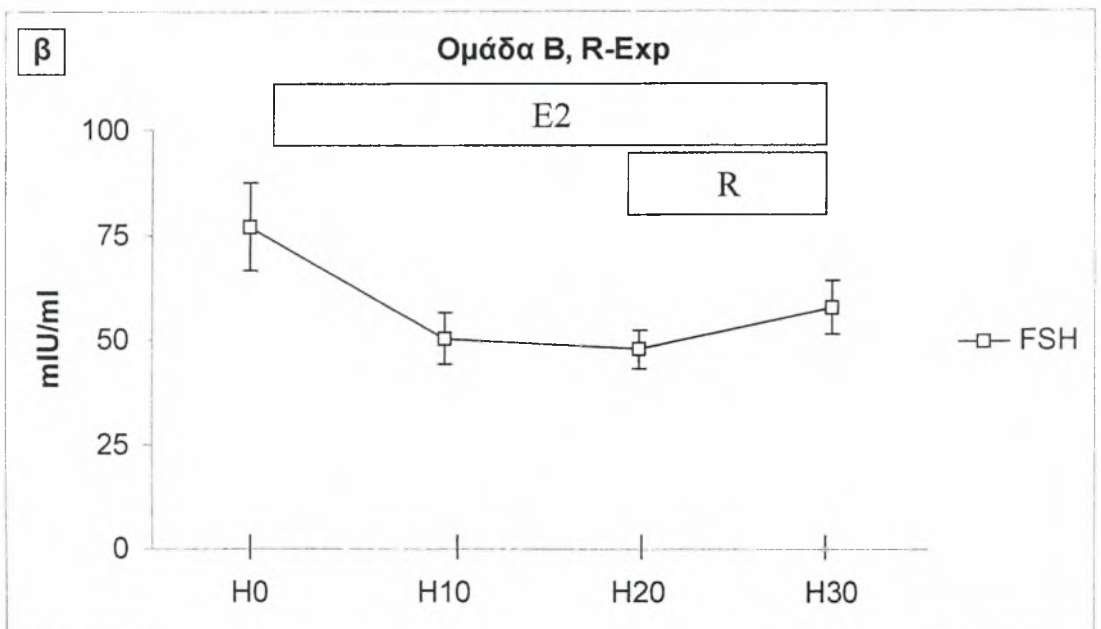
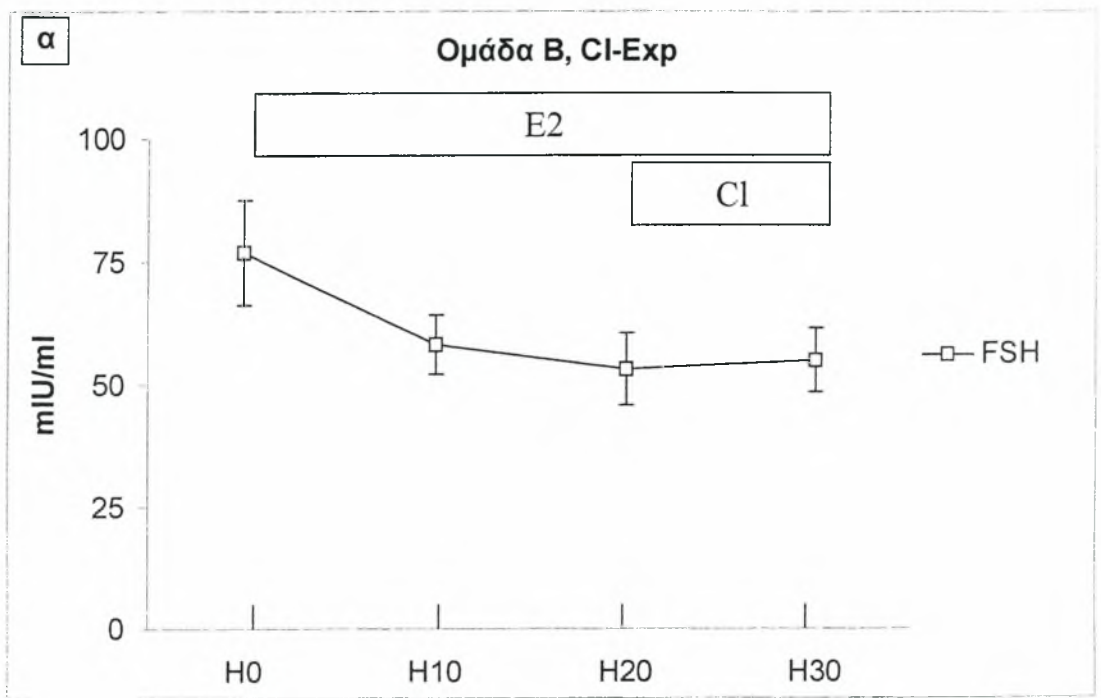
**Σχήμα 5.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της LH των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp.

την H0 (H0 έναντι H10: P=0,016, H20: P=0,003, και H30: P=0,003). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.

Κατά τη διάρκεια της R-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της FSH στις ασθενείς της Ομάδας B ήταν κατά την H0  $77,7 \pm 10,4$  mIU/ml, κατά την H10  $50,3 \pm 6,2$  mIU/ml, κατά την H20  $47,7 \pm 4,6$  mIU/ml και κατά την H30  $57,7 \pm 6,4$  mIU/ml, (Πίνακας 4). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της FSH ( $F_{3,21}=16,043$ ,  $P<0,001$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της FSH κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μικρότερες από την βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10: P=0,002, H20: P=0,003, και H30: P=0,003), ενώ σημαντική αύξηση της βασικής τιμής της FSH παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H20 (P=0,016). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.

Το **Σχήμα 6 (α και β)** απεικονίζει τα βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της FSH των γυναικών της Ομάδας B, κατά τη διάρκεια της CI-Exp και R-Exp, αντίστοιχα.

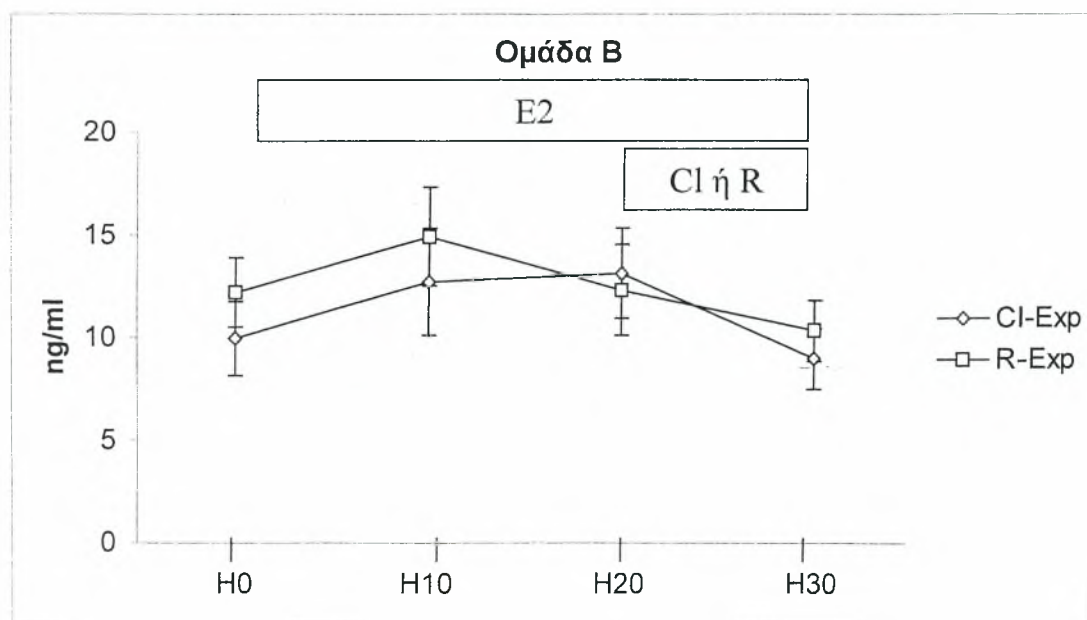
**PRL:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της προλακτίνης στις ασθενείς της Ομάδας B, κατά τη διάρκεια της CI-Exp ήταν κατά την H0  $9,9 \pm 1,8$  ng/ml, κατά την H10  $12,7 \pm 2,6$  ng/ml, κατά την H20  $13,1 \pm 2,3$  ng/ml και κατά την H30  $8,9 \pm 1,6$  ng/ml, (Πίνακας 3). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της προλακτίνης ( $F_{3,21}=7,207$ ,  $P=0,002$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της προλακτίνης κατά την H10 και την H20 ήταν σημαντικά αυξημένες σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10: P=0,023 και H20: P=0,019). Στη συνέχεια, παρατηρήθηκε κατά την H30 σημαντική μείωση της προλακτίνης σε σχέση με την H10 και H20 (H30 έναντι H10: P=0,017 και H20: P=0,007). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.



**Σχήμα 6.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της FSH των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp.

Κατά τη διάρκεια της R-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της προλακτίνης, στις ασθενείς της Ομάδας Β, ήταν κατά την H0  $12,2 \pm 1,8$  ng/ml, κατά την H10  $14,9 \pm 2,5$  ng/ml, κατά την H20  $12,3 \pm 2,3$  ng/ml και κατά την H30  $10,3 \pm 1,5$  ng/ml, (Πίνακας 4). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της προλακτίνης ( $F_{3,21}=2,142$ ,  $P=0,125$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις, αν και η τάση κατά την H10 και την H20 ήταν αυξητική.

Στο **Σχήμα 7** απεικονίζονται τα βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της προλακτίνης των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και R-Exp. Δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ της CI-Exp και της R-Exp.

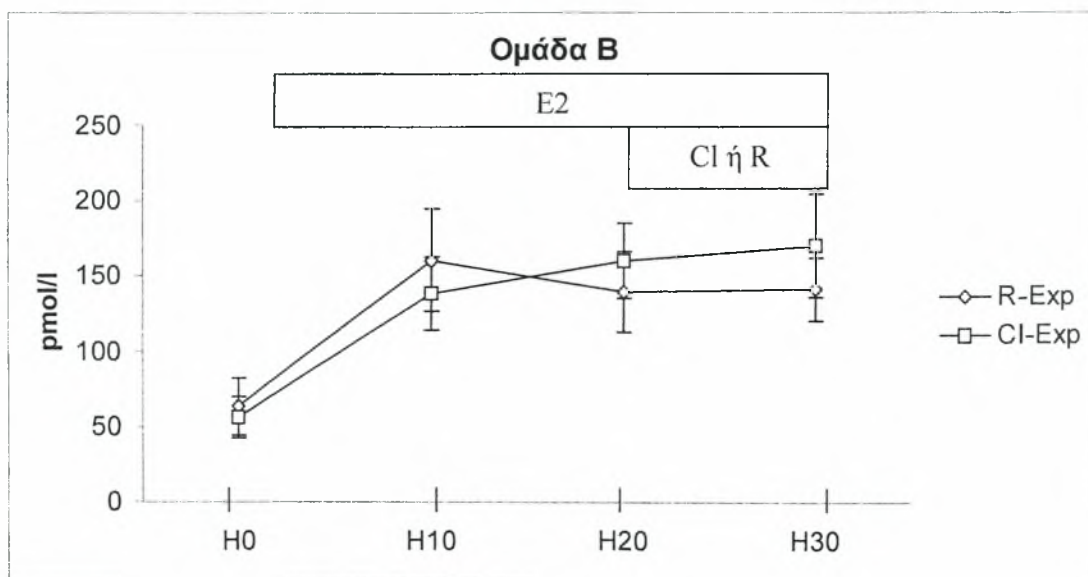


**Σχήμα 7.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της προλακτίνης (PRL) των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και R-Exp.

**E2:** Τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της οιστραδιόλης στις ασθενείς της Ομάδας Β, κατά τη διάρκεια της CI-Exp, ήταν κατά την H0  $56,1 \pm 13,6$  pmol/l, κατά την H10  $138,4 \pm 24,3$  pmol/l, κατά την H20  $160,8 \pm 25$  pmol/l και κατά την H30  $170,1 \pm 34,4$  pmol/l, (Πίνακας 3). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της οιστραδιόλης (Friedman test,  $P=0,012$ ) κατά τις

τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της οιστραδιόλης κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μεγαλύτερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10:  $P=0,017$ , H20:  $P=0,012$  και H30:  $P=0,020$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.

Κατά τη διάρκεια της R-Exp τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της οιστραδιόλης, στις ασθενείς της Ομάδας Β ήταν κατά την H0  $63,3\pm 19,0$  pmol/l, κατά την H10  $160,4\pm 34,6$  pmol/l, κατά την H20  $139,5\pm 26,8$  pmol/l και κατά την H30  $141,3\pm 20,8$  pmol/l, (Πίνακας 4). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βασικών τιμών της οιστραδιόλης (Friedman test,  $P=0,008$ ) κατά τις τέσσερις αυτές μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, οι βασικές τιμές της οιστραδιόλης κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μεγαλύτερες από τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10:  $P=0,012$ , H20:  $P=0,024$  και H30:  $P=0,018$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής. Στο **Σχήμα 8** απεικονίζονται τα βασικά επίπεδα (mean  $\pm$  SEM) της οιστραδιόλης των γυναικών της Ομάδας Β, κατά τη διάρκεια της CI-Exp και R-Exp.



**Σχήμα 8.** Βασικά επίπεδα (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της οιστραδιόλης (E2) των γυναικών της Ομάδας Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και R-Exp .



#### **4. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ LH ΚΑΙ ΤΗΣ FSH ΣΤΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΧΡΟΝΙΚΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ R-EXP ΚΑΙ CL-EXP ΣΤΗΝ ΟΜΑΔΑ Β.**

Συγκρίνοντας τις μεταβολές από μέτρηση σε μέτρηση των βασικών τιμών της LH μεταξύ των δύο πειραματικών περιόδων, παρατηρούμε από την H10 στην H30 της Cl-Exp μείωση των τιμών της LH κατά 12,8%, ενώ κατά το αντίστοιχο διάστημα της R-Exp οι τιμές της LH αυξήθηκαν κατά 41,7%, μεταβολές που διέφεραν μεταξύ τους στατιστικώς σημαντικά ( $P=0,018$ ). Παρατηρούμε επίσης, από την H10 στην H30 της Cl-Exp μείωση των τιμών της FSH κατά 5,6%, ενώ κατά το αντίστοιχο διάστημα της R-Exp οι τιμές της FSH αυξήθηκαν κατά 14,7%, μεταβολές που διέφεραν μεταξύ τους στατιστικώς σημαντικά ( $P=0,046$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταβολών των βασικών τιμών των LH και FSH κατά τις δύο πειραματικές περιόδους.

#### **5. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΜΠΥΛΗ (AUC), ΤΗΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΕΚΛΥΣΗΣ (TOTAL VALUES) ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΕΓΙΣΤΗΣ ΤΙΜΗΣ (PEAK VALUES) ΤΩΝ LH ΚΑΙ FSH ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΟΜΑΔΕΣ (Α ΚΑΙ Β).**

Στις ασθενείς και των δύο ομάδων (Α και Β) μετρήθηκαν, εκτός από τις τιμές της βασικής έκκρισης των ορμονών LH και FSH πριν από τη χορήγηση της GnRH (T0), τα επίπεδα των ορμονών αυτών 30, 60, 90 και 120 min (T30, T60, T90 και T120, αντίστοιχα) μετά από τη χορήγηση της GnRH κατά τις ημέρες H0,



H10, H20 και H30 της R-Exp και CI-Exp. Από τις ανωτέρω μετρήσεις υπολογίσθηκαν, για κάθε ορμόνη, η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC), η συνολική (total) έκλυση και η μέγιστη τιμή (peak), κατά τις τέσσερις διαφορετικές ημέρες του κάθε μήνα, που έγιναν οι αιμοληψίες.

## Ομάδα Α

Στον Πίνακα 5 φαίνονται οι τιμές της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της LH και της FSH των ασθενών της Ομάδας Α κατά τις H0, H10, H20 και H30 της R-Exp και στον Πίνακα 6 φαίνονται οι τιμές της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της LH και της FSH των ασθενών της Ομάδας Α κατά τις H0, H10, H20 και H30 της CI-Exp. Από τη μελέτη των τιμών αυτών προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα.

*Πίνακας 5. Τιμές (μέση τιμή ± SEM) της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής των ορμονών LH και FSH των γυναικών της Ομάδας Α κατά τις H0-H30 της R-Exp.*

	Ημέρα				P
	H0	H10	H20	H30	
<b>LH</b>					
AUC (ΔLH)	6921±824	8313±812	7875±940	8823±1074	0,026
Συνολ. έκλ.	256,1±30,3	310,4±31	295,7±35,3	332,3±40,6	0,009
Μέγ. τιμή	78,9±238,1	91,9±9,4	105,3±12,4	95,1±12	0,043
<b>FSH</b>					
AUC (ΔFSH)	2338±279	2529±252	3237±440	2764±364	0,079
Συνολ. έκλ.	89,8±11,4	97,4±9,1	123,5±16,3	106,9±14,2	0,062
Μέγ. τιμή	29,3±3,6	32,2±2,8	46,2±8,2	36,8±5,1	0,129

**Πίνακας 6.** Τιμές (μέση τιμή ± SEM) της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής των ορμονών LH και FSH των γυναικών της Ομάδας Α κατά τις Η0-Η30 της Cl-Exp.

	Ημέρα				P
	H0	H10	H20	H30	
<b>LH</b>					
<b>AUC (ΔLH)</b>	7862±919	7933±586	7467±918	81,69±973	0,706
<b>Συνολ. έκλ.</b>	292,4±33,6	295,7±22,2	280,3±35,5	306,3±37,0	0,758
<b>Μέγ. τιμή</b>	89,8±12,0	87,4±7,4	82,5±9,1	88,6±10,3	0,725
<b>FSH</b>					
<b>AUC (ΔFSH)</b>	2510±306	2765±517	2116±385	3231±492	0,019
<b>Συνολ. έκλ.</b>	95,4±10,7	105,6±19,7	83,4±15,6	123,8±19,0	0,028
<b>Μέγ. τιμή</b>	31,2±4,0	33,3±6,1	30,7±5,1	40,6±6,5	0,039

**LH:** Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της AUC της ΔLH (P=0,026) κατά τις τέσσερις ημέρες της R-Exp. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των τιμών της AUC της ΔLH κατά την Η10 (κατά 20,1%) και την Η30 (κατά 27,5%) σε σχέση με την Η0 (Η0 έναντι Η10: P=0,002 και Η30: P=0,001). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της AUC της ορμόνης αυτής. Κατά την Η30, 10 ημέρες μετά τη χορήγηση της οιστραδιόλης, οι τιμές της AUC της ΔLH δεν αυξήθηκαν σημαντικά (κατά 12,0%, P=0,297).

Αντίστοιχες μεταβολές παρατηρήθηκαν μεταξύ των τιμών στη συνολικής έκλυσης της LH κατά το χρονικό διάστημα από Η0 έως Η30 (P=0,009). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των τιμών της συνολικής έκλυσης της LH κατά την Η10 (κατά 20,8%) και την Η30 (κατά 29,4%) σε σχέση με την Η0 (Η0 έναντι Η10: P=0,001 και Η30: P=0,001). Δεν βρέθηκαν άλλες

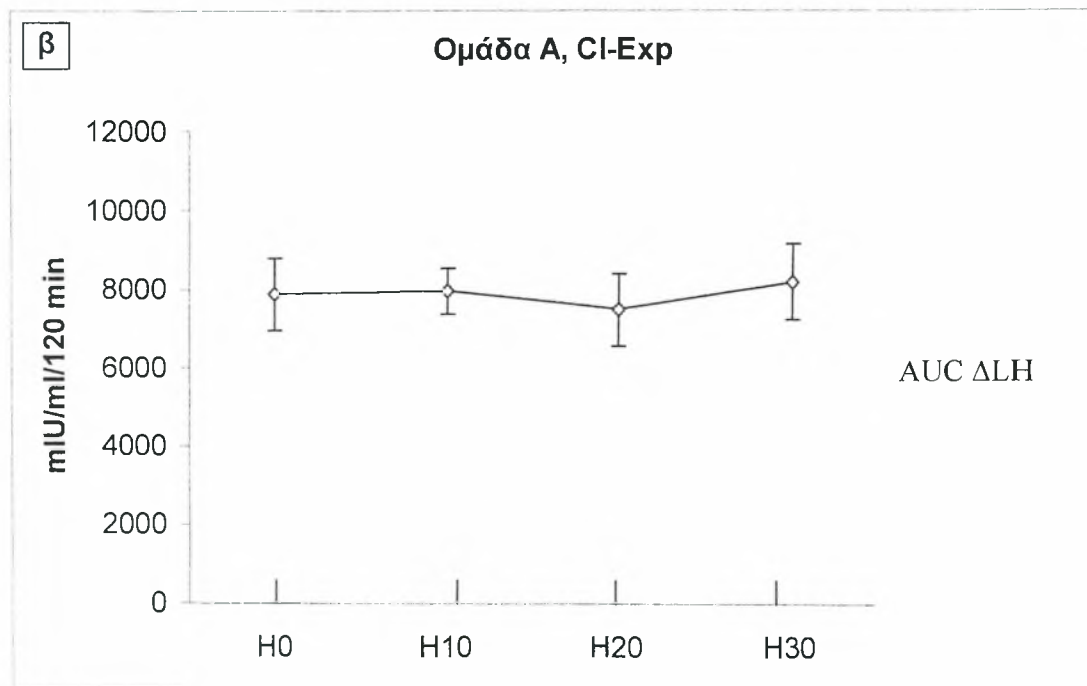
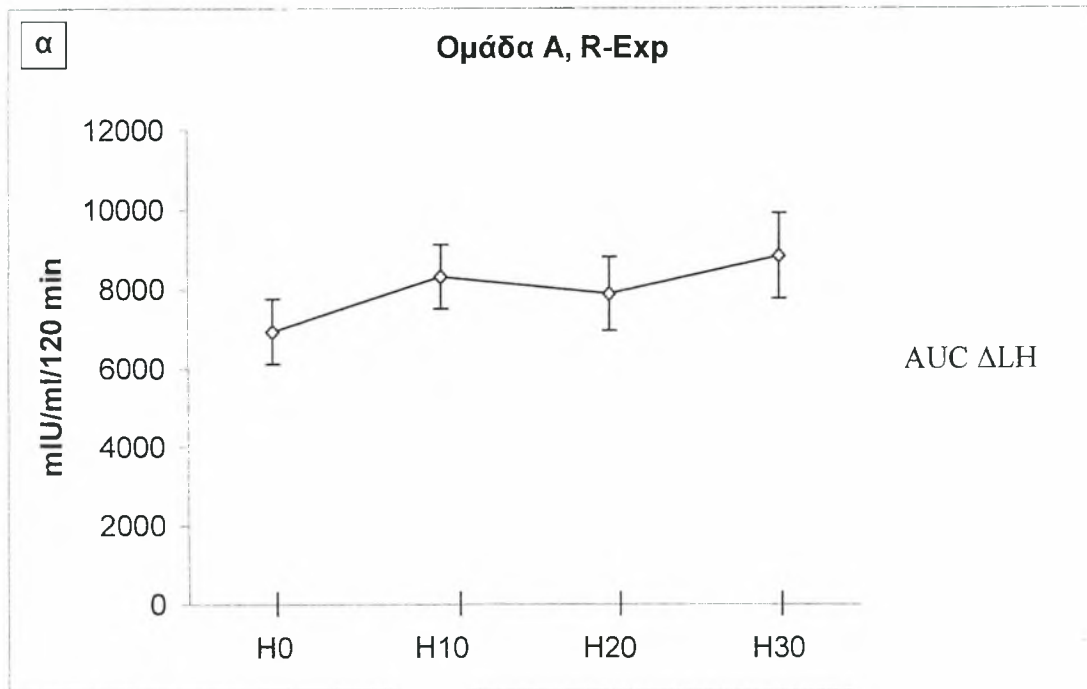
στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της ορμόνης αυτής. Κατά την H30, 10 ημέρες μετά τη χορήγηση της οιστραδιόλης, οι τιμές της συνολικής έκλυσης της LH δεν αυξήθηκαν σημαντικά (κατά 12,6%,  $P=0,239$ ).

Στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,043$ ) παρατηρήθηκαν επίσης μεταξύ της μέσης μέγιστης τιμής της LH κατά το χρονικό διάστημα από H0 έως H30. Πιο συγκεκριμένα, οι μέγιστες τιμές της LH κατά την H10, την H20 και την H30 ήταν σημαντικά μεγαλύτερες από τη μέση μέγιστη τιμή της ορμόνης αυτής κατά την H0 (H0 έναντι H10:  $P<0,001$ , H20:  $P=0,041$  και H30:  $P=0,012$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των βασικών τιμών της ορμόνης αυτής.

Οι τιμές της AUC, της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της LH των ασθενών της Ομάδας A κατά τις H0, H10, H20 και H30 της CI-Exp φαίνονται στον **Πίνακα 6**. Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ούτε μεταξύ των τιμών της AUC της ΔLH ( $P=0,706$ ), ούτε μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της LH ( $P=0,758$ ), ούτε και μεταξύ της μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής ( $P=0,725$ ) κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της CI-Exp.

Το **Σχήμα 9 (α και β)** απεικονίζει τις μεταβολές (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της AUC της ΔLH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα A κατά τη διάρκεια του R-Exp και του CI-Exp αντίστοιχα.

**FSH:** Οι τιμές της AUC, της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της ορμόνης FSH των ασθενών της Ομάδας A κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της R-Exp αναγράφονται στον **Πίνακα 5**. Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά ούτε μεταξύ των τιμών της AUC της ΔFSH ( $P=0,079$ ), ούτε μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της FSH ( $P=0,062$ ), ούτε και μεταξύ της μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής ( $P=0,129$ ) κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της R-Exp.



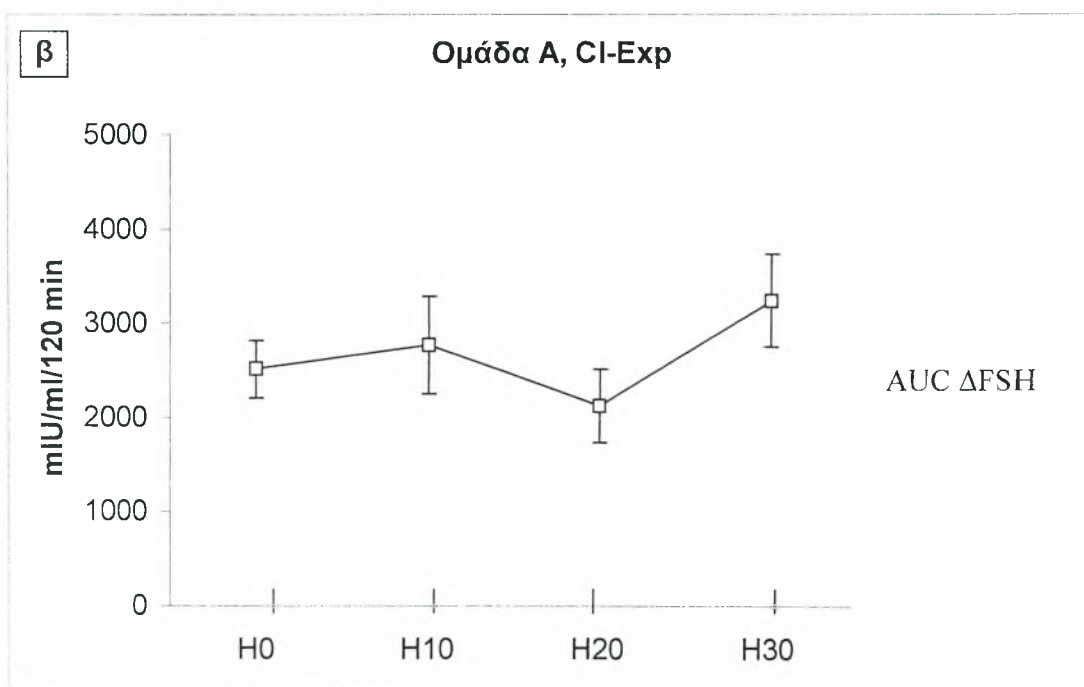
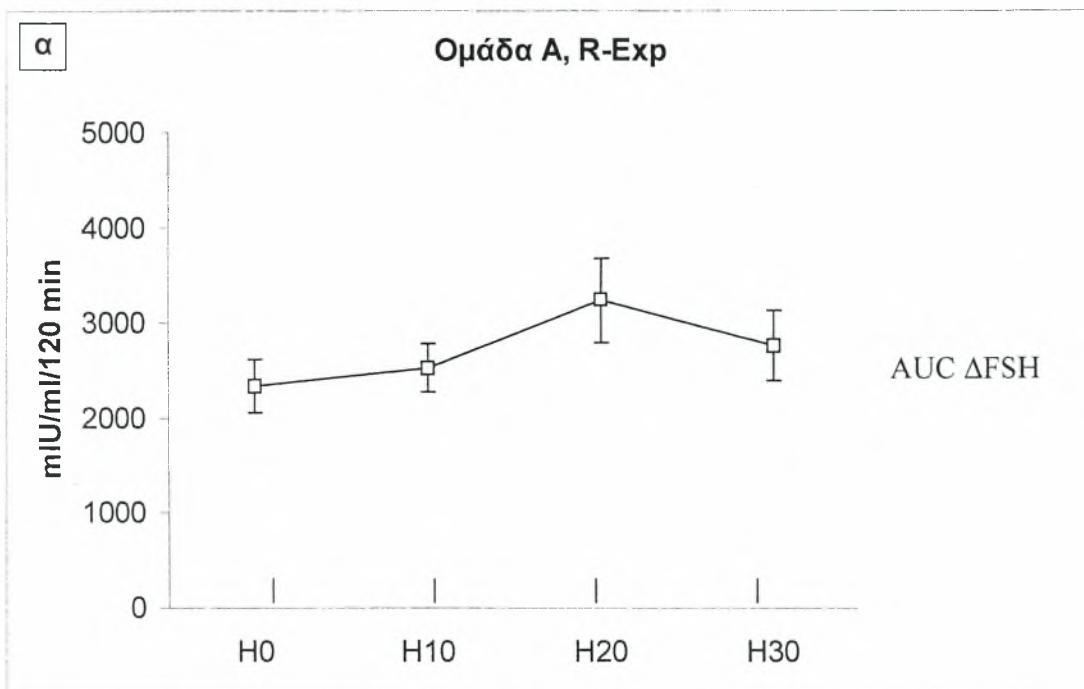
**Σχήμα 9.** AUC (μέση τιμή ± SEM) της ΔLH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα A κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp.

Κατά την CI-Exp οι τιμές της AUC, της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της FSH των ασθενών της Ομάδας Α κατά τις Η0, Η10, Η20 και Η30, φαίνονται στον **Πίνακα 6**. Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν τόσο μεταξύ των τιμών της AUC της ΔFSH ( $P=0,019$ ), όσο και μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της FSH ( $P=0,028$ ) και μεταξύ της μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής ( $P=0,039$ ) κατά το χρονικό διάστημα από Η0 έως Η30. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε κατά την Η30 σε σχέση με την Η20 σημαντική αύξηση της AUC της ΔFSH κατά 52,7% ( $P<0,001$ ), της συνολικής έκλυσης της FSH κατά 48,3% ( $P=0,001$ ) και της μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής κατά 32,1% ( $P=0,016$ ).

Το **Σχήμα 10 (α και β)** απεικονίζει τις μεταβολές (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της AUC της ΔFSH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα Α κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp αντίστοιχα.

## Ομάδα Β

Στον **Πίνακα 7** φαίνονται οι τιμές της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της LH και FSH των ασθενών της Ομάδας Β κατά τις Η0, Η10, Η20 και Η30 της CI-Exp και στον **Πίνακα 8** φαίνονται οι τιμές της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της LH και FSH των ασθενών της Ομάδας Β κατά τις Η0, Η10, Η20 και Η30 της R-Exp. Από τη μελέτη των τιμών αυτών κατά τις δύο πειραματικές περιόδους (CI-Exp και R-Exp) προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα.



**Σχήμα 10.** AUC (μέση τιμή ± SEM) της ΔFSH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα A κατά τη διάρκεια της R-Exp και της CI-Exp.

**Πίνακας 7.** Τιμές (μέση τιμή ± SEM) της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής των ορμονών LH και FSH των γυναικών της Ομάδας Β κατά τις Η0-Η30 της CI-Exp.

	Ημέρα				P
	H0	H10	H20	H30	
<b>LH</b>					
AUC (ΔLH)	8778±1200	8584±983	7626±1141	7287±905	0,039
Συνολ. έκλυση	329,3±45,4	324,1±38	289,4±44,2	276,4±35,6	0,018
Μέγ. τιμή	97,6±13	93,4±10,8	87,2±14,5	87,4±11,4	0,524
<b>FSH</b>					
AUC (ΔFSH)	2502±290	2234±313	1882±154	2091±290	0,32
Συνολ. έκλυση	96,6±32,8	87,6±37,3	74,8±16,1	81,3±33,1	0,37
Μέγ. τιμή	31,9±10,9	30,8±14,1	26±5,3	29,1±13,4	0,569

**Πίνακας 8.** Τιμές (μέση τιμή ± SEM) της AUC (ΔLH και ΔFSH), της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής των ορμονών LH και FSH των γυναικών της Ομάδας Β κατά τις Η0-Η30 της R-Exp.

	Ημέρα				P
	H0	H10	H20	H30	
<b>LH</b>					
AUC (ΔLH)	7129±1124	5968±956	6577±873	7927±1071	0,041
Συνολ. έκλυση	266,7±42,7	226,6±36,0	250,4±33,3	302,1±42,2	0,028
Μέγ. τιμή	79,2±11,3	71,0±13,2	75,9±9,2	88,0±11,6	0,30
<b>FSH</b>					
AUC (ΔFSH)	1891±277	1371±245	1705±232	2445±402	0,047
Συνολ. έκλυση	71,6±10,3	54,0±9,7	66,5±9,3	95,5±15,7	0,047
Μέγ. τιμή	26,9±4,6	20,7±4,4	24,2±3,5	32,6±4,3	0,152

**LH:** Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της AUC της LH ( $P=0,039$ ) κατά τη διάρκεια της CI-Exp. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των τιμών της AUC της ΔLH κατά την H30 σε σχέση με την H0 (κατά 17%,  $P=0,012$ ), την H30 σε σχέση με την H10 (κατά 15,1%, H10,  $P=0,036$ ) και κατά την H20 σε σχέση με την H0 (κατά 13,1%,  $P=0,030$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της AUC της ορμόνης αυτής (**Σχήμα 11**).

Αντίστοιχες μεταβολές παρατηρήθηκαν μεταξύ των τιμών στη συνολικής έκλυσης της LH κατά το χρονικό διάστημα από H0 έως H30 ( $P=0,018$ ). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συνολικής έκλυσης της LH κατά την H30 σε σχέση με την H0 (κατά 16,1%,  $P=0,012$ ) και την H10 (κατά 14,8%,  $P=0,046$ ) και κατά την H20 σε σχέση με την H0 (κατά 12,1%,  $P=0,029$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της ορμόνης αυτής. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή ( $P=0,524$ ) της μέσης μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής κατά της ημέρες H0-H30 στη διάρκεια της CI-Exp.

Κατά τη διάρκεια της R-Exp παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της AUC της ΔLH ( $P=0,041$ ). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των τιμών της AUC της ΔLH κατά την H10 σε σχέση με την H0 (κατά 16,2%,  $P=0,024$ ), ενώ σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H10 (κατά 32,8%,  $P=0,011$ ) (**Πίνακας 8**). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της AUC της ορμόνης αυτής.

Το **Σχήμα 11 (α και β)** απεικονίζει τις μεταβολές (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της AUC της ΔLH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp αντίστοιχα.



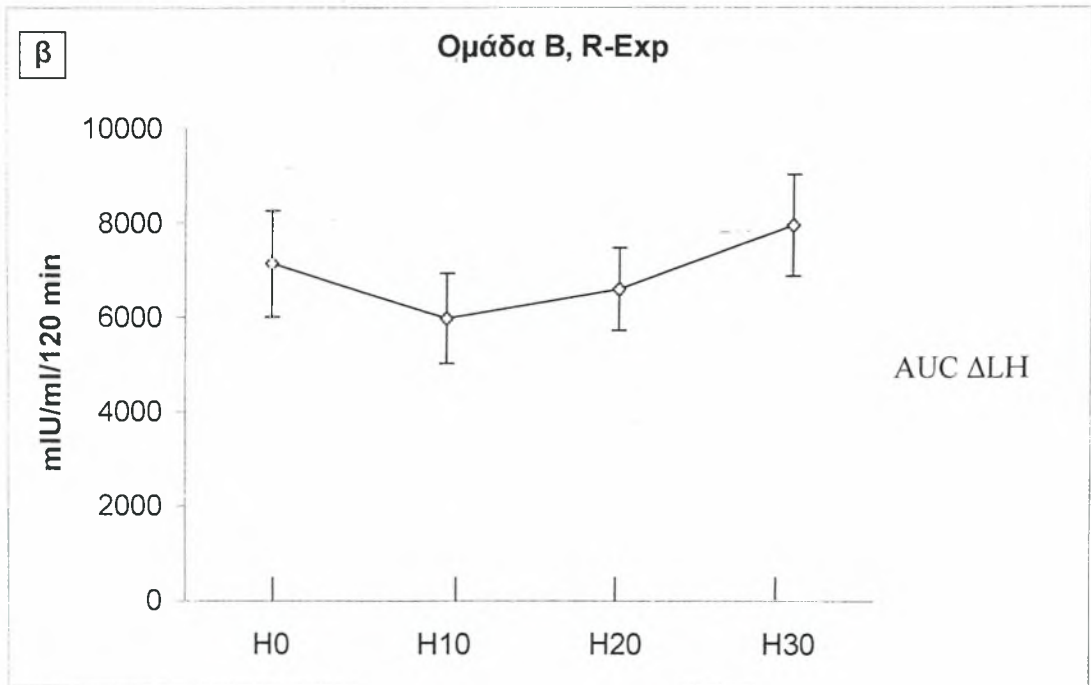
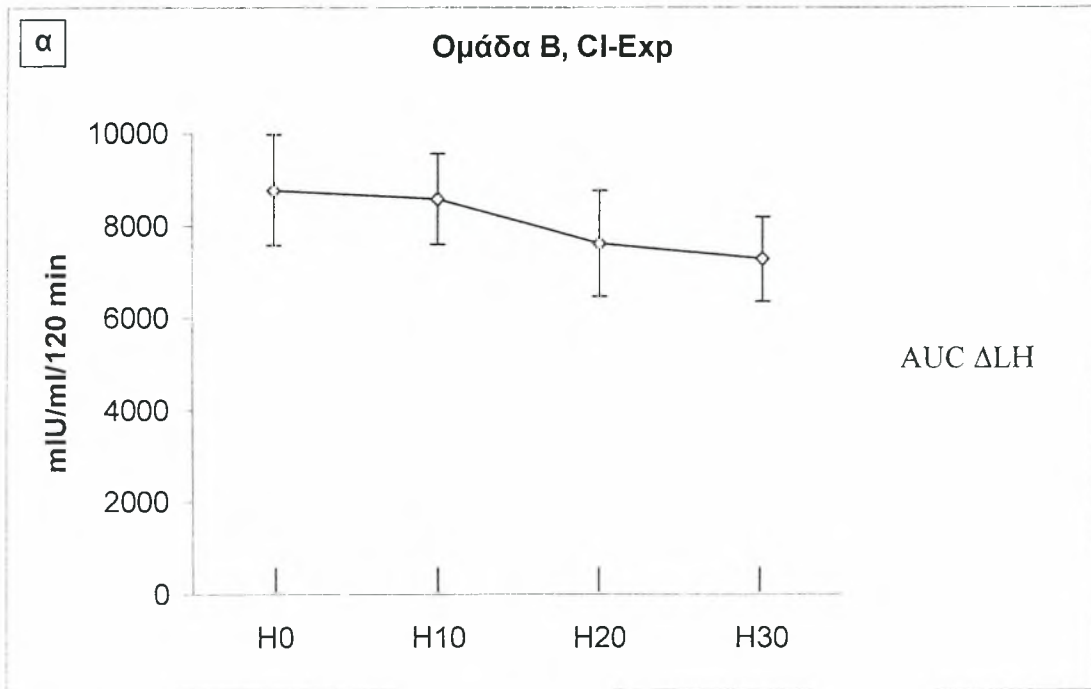
Αντίστοιχες μεταβολές παρατηρήθηκαν μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της LH κατά τις ημέρες H0-H30 ( $P=0,028$ ). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των τιμών της συνολικής έκλυσης της LH κατά την H10 σε σχέση με την H0 (κατά 15%,  $P=0,031$ ), ενώ σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H10 (κατά 33,6%,  $P=0,011$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της ορμόνης αυτής.

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή ( $P=0,300$ ) της μέσης μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες H0-H30 στη διάρκεια του μήνα αυτού.

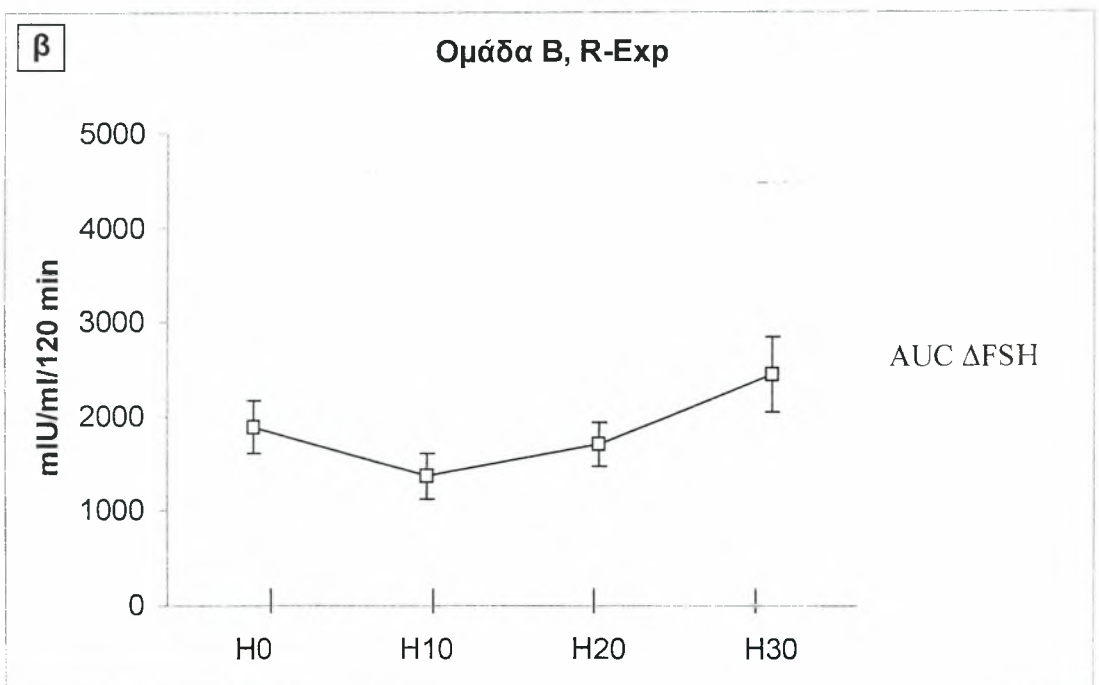
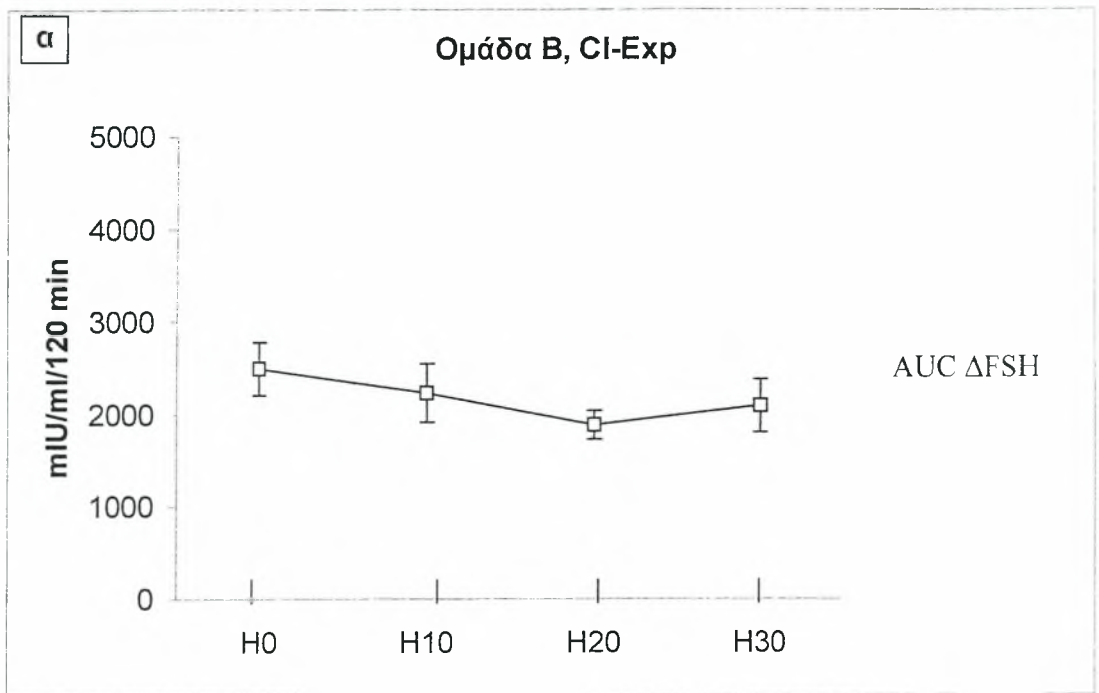
**FSH:** Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ούτε μεταξύ των τιμών της AUC της  $\Delta$ FSH ( $P=0,320$ ), ούτε μεταξύ των τιμών της συνολικής έκλυσης της FSH ( $P=0,373$ ), ούτε και μεταξύ της μέγιστης τιμής της ορμόνης αυτής ( $P=0,569$ ) κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της CI-Exp (**Πίνακας 7**) (**Σχήμα 12**).

Κατά την R-Exp οι τιμές της AUC, της συνολικής έκλυσης και της μέγιστης τιμής της FSH των ασθενών της Ομάδας Β κατά τις H0, H10, H20 και H30 φαίνονται στον **Πίνακα 8**. Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της AUC της  $\Delta$ FSH ( $P=0,047$ ) κατά τη διάρκεια της R-Exp. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των τιμών της AUC της  $\Delta$ FSH κατά την H30 σε σχέση με την H0 (κατά 29,2%,  $P=0,038$ ) και την H10 (κατά 78,4%,  $P=0,026$ ). Δεν βρέθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών της AUC της ορμόνης αυτής (**Σχήμα 12**).

Το **Σχήμα 12 (α και β)** απεικονίζει τις μεταβολές ( $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ) της AUC της  $\Delta$ FSH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp αντίστοιχα.



Σχήμα 11. AUC (μέση τιμή ± SEM) της ΔLH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp.



**Σχήμα 12.** AUC (μέση τιμή ± SEM) της ΔFSH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH στην Ομάδα Β κατά τη διάρκεια της CI-Exp και της R-Exp.

6. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ LH ΚΑΙ ΤΗΣ FSH  
ΚΑΤΑ ΤΙΣ ΧΡΟΝΙΚΕΣ ΣΤΙΓΜΕΣ ΑΙΜΟΛΗΨΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ GnRH

Ομάδα Α

1) R-Exp

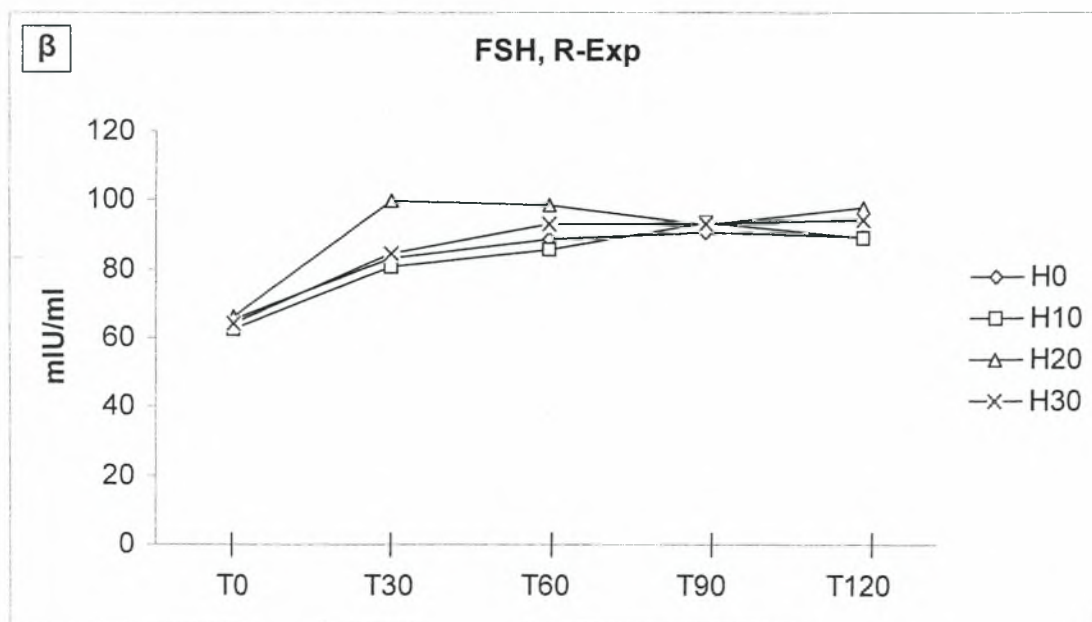
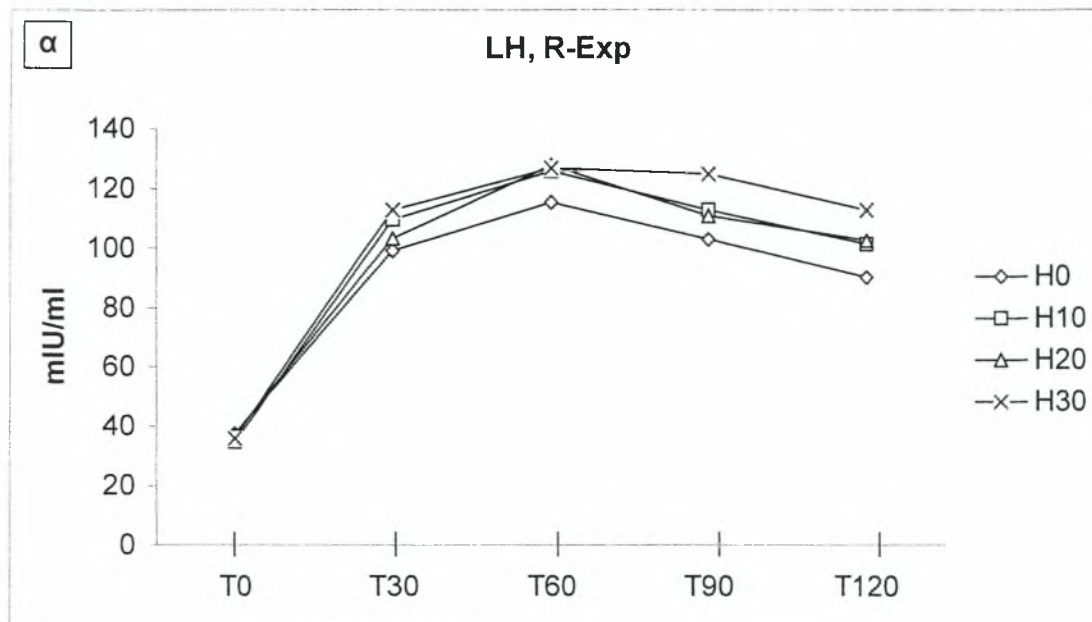
Στον Πίνακα 9 αναγράφονται οι τιμές των επιπέδων της LH και της FSH στις ασθενείς της Ομάδας Α, κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της R-Exp.

*Πίνακας 9. Επίπεδα LH και FSH (μέση τιμή ± SEM) στις γυναίκες της Ομάδας Α κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη χορήγηση της GnRH (T0) τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της R-Exp (\*:Το P αντιστοιχεί σε συγκρίσεις μεταξύ των χρονικών στιγμών T30 - T120).*

	Χρονική στιγμή αιμοληψίας					P*
	T0	T30	T60	T90	T120	
<b>LH</b>						
H0	37,0±6,2	99,0±13,8	115±13,4	103±13,0	90,0±10,7	0,001
H10	35,0±6,6	109±12,4	126±14,8	113±13,4	101±13,8	0,002
H20	37,0±5,8	103±13,0	128±18,3	111±16,6	102±15,9	0,296
H30	36,0±5,6	112±14,5	126±15,2	125±15,9	113±15,5	0,042
<b>FSH</b>						
H0	65,1±9,8	82,9±10,9	88,4±11,2	90,2±13,1	88,9±13,4	0,103
H10	62,5±9,7	80,4±10,9	85,4±10,9	93,1±10,9	88,7±11,1	0,001
H20	66,0±10,0	99,6±13,4	98,2±13,5	92,4±14,0	97,4±13,2	0,653
H30	64,1±10,5	84,4±14,9	92,8±12,6	92,6±12,7	93,8±14,6	0,162

**LH:** Σε όλες τις ημέρες της μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P < 0,001$ ) των επιπέδων της LH κατά τη μέτρηση T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0), της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια, παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της LH μεταξύ των μετρήσεων T30, T60, T90 και T120 (**Πίνακας 9**). Συγκεκριμένα, σημαντική αύξηση, σε σχέση με την T30 παρατηρήθηκε κατά τη μέτρηση T60, όπου και παρατηρήθηκε η υψηλότερη τιμή της LH. Από την τιμή αυτή παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της LH κατά τις μετρήσεις T90 και T120. Σημαντική μείωση παρατηρήθηκε επίσης κατά την T120 σε σχέση με την T90. Και στις τέσσερις χρονικές στιγμές (T30-T120) τα επίπεδα της LH ήταν σημαντικά μεγαλύτερα ( $P < 0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας. Στο **Σχήμα 13 (α και β)** φαίνονται οι μεταβολές των επιπέδων της LH και FSH αντίστοιχα ως απάντηση στη GnRH σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120), σε όλες τις ημέρες της μελέτης (H0, H10, H20 και H30).

**FSH:** Σε όλες τις ημέρες της μελέτης, παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P < 0,001$ ) των επιπέδων της FSH κατά τη μέτρηση T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της FSH μεταξύ των μετρήσεων T30, T60, T90 και T120 μόνο κατά την ημέρα H10. Πιο συγκεκριμένα, κατά την ημέρα αυτή σημαντική αύξηση σε σχέση με την T30 παρατηρήθηκε κατά τη χρονική στιγμή T90 ( $P = 0,005$ ) και T120 ( $P = 0,017$ ). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της FSH μεταξύ των μετρήσεων T30, T60, T90 και T120 κατά τις ημέρες H0, H20 και H30. Η υψηλότερη τιμή της FSH παρατηρήθηκε κατά τη χρονική στιγμή T90 (ημέρα H0 και H10), κατά τη χρονική στιγμή T30 (ημέρα H20) και κατά τη στιγμή T120 (ημέρα H30), ενώ και στις τέσσερις χρονικές στιγμές (T30-T120) τα επίπεδα της FSH παρέμειναν σημαντικά υψηλότερα ( $P < 0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας σε όλες τις ημέρες της μελέτης (**Σχήμα 13 β**).



**Σχήμα 13.** Διακύμανση των επιπέδων (μέση τιμή) της LH (α) και της FSH (β) στις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120) ως απάντηση στη GnRH στις γυναίκες της Ομάδας Α της R-Exp.

Στη συνέχεια, έγινε σύγκριση των μεταβολών που παρουσίασαν τα επίπεδα των LH και FSH στις διάφορες χρονικές στιγμές σε σχέση με τη βασική έκκριση (T0), μεταξύ των ημερών μελέτης (H0, H10, H20 και H30) της R-Exp στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα.

### **Σύγκριση των μεταβολών της LH**

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,493$ ) μεταξύ των μεταβολών αυτών κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T30 παρατηρήθηκε κατά τις ημέρες H10 και H30 σε σύγκριση με την H0.

**T0-T60:** Ομοίως, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,217$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T60 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T60 παρατηρήθηκε κατά τις ημέρες H10 και H30 σε σύγκριση με την H0.

**T0-T90:** Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,015$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα, σημαντικά μεγαλύτερη ( $P<0,010$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T90 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H30 από ό,τι κατά την H0, ενώ ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H20.

**T0-T120:** Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,008$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα,

σημαντικά μεγαλύτερη ( $P < 0,05$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T120 παρατηρήθηκε κατά τις ημέρες H10 και H30 από ό,τι κατά την H0, ενώ ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P > 0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H20.

### **Σύγκριση των μεταβολών της FSH**

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,250$ ) μεταξύ των μεταβολών αυτών κατά τις ημέρες μελέτης.

**T0-T60:** Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,015$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T60 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα, σημαντικά μεγαλύτερη ( $P < 0,05$ ) αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T60 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H20 από ό,τι κατά την H0, ενώ ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P > 0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H10 και την H20 σε σχέση με την H10.

**T0-T90:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,470$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,239$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P > 0,10$ ) αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T60 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H20 σε σχέση με την H0.



## 2) CI-Exp

Στον Πίνακα 10 αναγράφονται οι τιμές των LH και FSH στις γυναίκες της Ομάδας Α, κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη χορήγηση της GnRH κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 της CI-Exp.

**Πίνακας 10.** Επίπεδα LH και FSH (μέση τιμή ± SEM) στις γυναίκες της Ομάδας Α κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη χορήγηση της GnRH τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) της CI-Exp (\*: Το P αντιστοιχεί σε συγκρίσεις μεταξύ των χρονικών στιγμών T30 - T120).

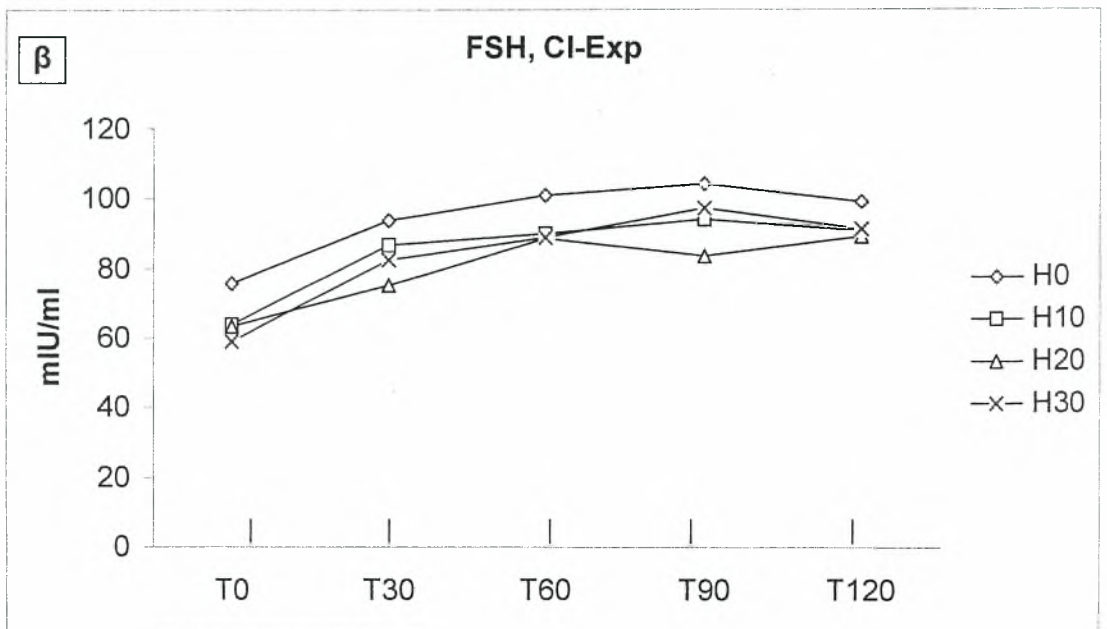
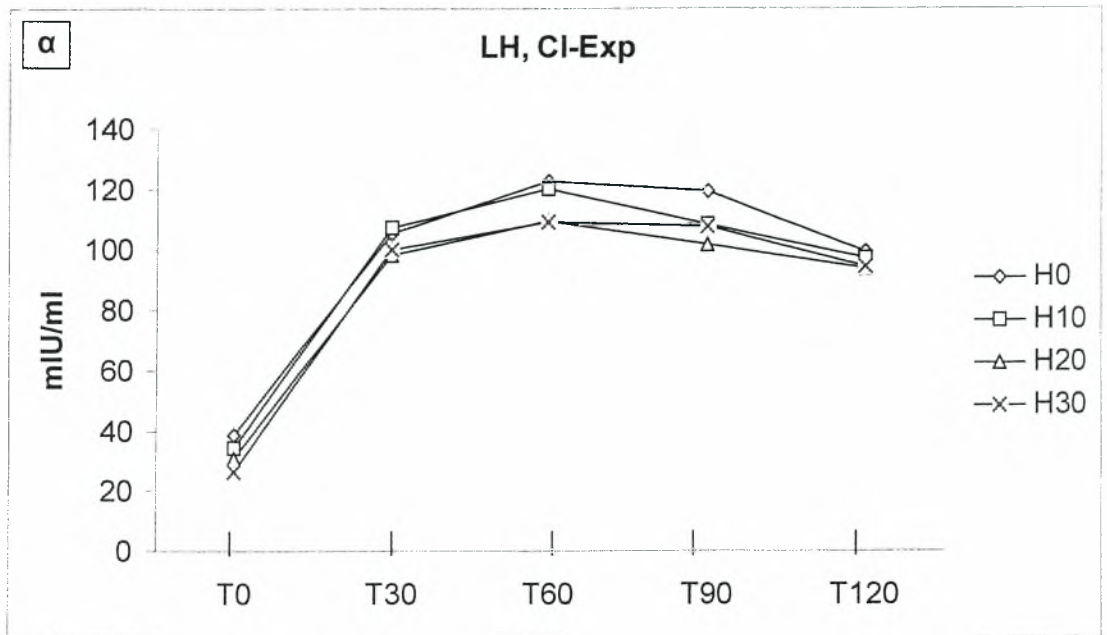
	Χρονική στιγμή αιμοληψίας					P*
	T0	T30	T60	T90	T120	
<b>LH</b>						
H0	38,5±5,5	105±10,2	122±16,3	119±15,2	99,3±10,9	0,019
H10	34,2±6,0	107±9,9	120±12,7	108±9,5	96,9±11,5	0,044
H20	30,7±5,4	98,1±11,7	109±13,4	101±15,9	93,6±15,4	0,102
H30	26,3±4,3	100±10,2	109±13,4	107±14,8	94,3±13,1	0,013
<b>FSH</b>						
H0	75,5±13,1	93,6±15,3	101±15,9	104±14,8	99,1±14,0	0,084
H10	63,9±10,4	86,7±13,8	89,9±14,3	93,8±15,7	90,8±14,7	0,212
H20	63,2±11,4	75,1±12,5	88,6±15,2	83,5±15,9	89,1±16,9	0,032
H30	58,9±10,2	82,2±12,0	88,8±15,1	97,1±15,1	91,1±15,0	0,010

**LH:** Σε όλες τις ημέρες μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P < 0,001$ ) των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της LH μεταξύ των μετρήσεων T30, T60, T90 και T120 (Πίνακας 10). Συγκεκριμένα, σημαντική αύξηση σε σχέση με την

T30 παρατηρήθηκε σε όλες τις ημέρες μελέτης κατά τη στιγμή T60 όπου και παρατηρήθηκε η υψηλότερη τιμή της LH. Από την τιμή αυτή παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T120. Και στις τέσσερις στιγμές (T30-T120) τα επίπεδα της LH παρέμειναν σημαντικά μεγαλύτερα ( $P < 0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας σε όλες τις ημέρες μελέτης. Στο **Σχήμα 14 (α και β)** φαίνονται οι μεταβολές των επιπέδων της LH και της FSH ως απάντηση στη GnRH, κατά τη διάρκεια των H0, H10, H20 και H30 σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120).

**FSH:** Σε όλες τις ημέρες μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P < 0,01$ ) των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της FSH μεταξύ των μετρήσεων T30, T60, T90 και T120 μόνο κατά τις ημέρες H20 και H30. Συγκεκριμένα κατά την H20 παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T60, T90 και T120, σε σχέση με την T30 όπου και παρατηρήθηκε η υψηλότερη τιμή της FSH. Την ημέρα H30 παρατηρήθηκε κατά την T90 και T120 σε σχέση με την T30 σημαντική αύξηση των επιπέδων της FSH. Επίσης, σημαντική αύξηση της FSH παρατηρήθηκε κατά την T90 σε σχέση με την T60, με υψηλότερη τιμή της FSH κατά την T90. Και στις τέσσερις στιγμές (T30-T120) σε όλες τις ημέρες της μελέτης τα επίπεδα της FSH παρέμειναν σημαντικά υψηλότερα ( $P < 0,01$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας (**Σχήμα 14 β**).

Στη συνέχεια, έγινε σύγκριση των μεταβολών που παρουσίασαν τα επίπεδα των LH και FSH στις διάφορες χρονικές στιγμές σε σχέση με τη βασική έκκριση (T0), μεταξύ των ημερών μελέτης H0, H10, H20 και H30 της CI-Exp στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα.



**Σχήμα 14.** Διακύμανση των επιπέδων (μέση τιμή) της LH (α) και της FSH (β) τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120) ως απάντηση στη GnRH στις γυναίκες της Ομάδας Α της CI-Exp.

### **Σύγκριση των μεταβολών της LH**

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,411$ ) μεταξύ των μεταβολών αυτών κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T30 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H10 σε σύγκριση με την H0.

**T0-T60:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,840$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά την στιγμή T60 σε σχέση με την βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τέσσερις ημέρες των αιμοληψιών.

**T0-T90:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,619$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τέσσερις ημέρες της μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H20.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,761$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης.

### **Σύγκριση των μεταβολών της FSH**

**T0-T30:** Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,011$ ) μεταξύ των μεταβολών αυτών κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα,

σημαντικά μεγαλύτερη ( $P < 0,05$ ) αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T30 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H30 από ό,τι κατά την H20, ενώ ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P > 0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά τις H0 και H10 σε σχέση με την H30.

**T0-T60:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,670$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά την αιμοληψία T60 σε σχέση με την βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης.

**T0-T90:** Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,031$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα, σημαντικά μεγαλύτερη ( $P < 0,001$ ) αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T90 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H30 από ό,τι κατά την H20, ενώ ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P > 0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H0.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P = 0,349$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις τέσσερις ημέρες μελέτης.

## Ομάδα Β

### 1) CI-Exp

Στον Πίνακα 11 αναγράφονται οι τιμές της LH και της FSH στις γυναίκες της Ομάδας Β κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη

χορήγηση της GnRH σε όλες τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) κατά την CI-Exp.

**Πίνακας 11.** Επίπεδα LH και FSH (μέση τιμή  $\pm$  SEM) στις γυναίκες της Ομάδας Β κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη χορήγηση της GnRH τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) της CI-Exp (\*: Το P αντιστοιχεί σε συγκρίσεις μεταξύ των χρονικών στιγμών T30 - T120).

	Χρονική στιγμή αιμοληψιών					P*
	T0	T30	T60	T90	T120	
<b>LH</b>						
H0	47,8 $\pm$ 7,3	130 $\pm$ 20,8	142 $\pm$ 19,8	126 $\pm$ 13,8	121 $\pm$ 18,0	0,025
H10	39,2 $\pm$ 6,6	116 $\pm$ 13,7	130 $\pm$ 14,5	120 $\pm$ 12,4	115 $\pm$ 13,4	0,040
H20	34,3 $\pm$ 5,4	98,7 $\pm$ 13,4	111 $\pm$ 16,3	112 $\pm$ 16,5	105 $\pm$ 16,3	0,295
H30	34,1 $\pm$ 5,1	102 $\pm$ 13,1	112 $\pm$ 14,1	97,4 $\pm$ 10,4	101 $\pm$ 17,0	0,314
<b>FSH</b>						
H0	76,9 $\pm$ 10,7	100 $\pm$ 10,6	99 $\pm$ 10,6	102 $\pm$ 10,6	102 $\pm$ 10,2	0,816
H10	58,2 $\pm$ 6,0	75,8 $\pm$ 9,3	77,7 $\pm$ 7,9	82,3 $\pm$ 9,2	84,5 $\pm$ 11,1	0,183
H20	53,1 $\pm$ 7,4	64,7 $\pm$ 7,3	73,2 $\pm$ 9,1	72,9 $\pm$ 7,9	75,8 $\pm$ 7,2	0,005
H30	54,9 $\pm$ 6,5	71,2 $\pm$ 7,8	73,9 $\pm$ 8,2	77,7 $\pm$ 10,7	78,2 $\pm$ 10,5	0,339

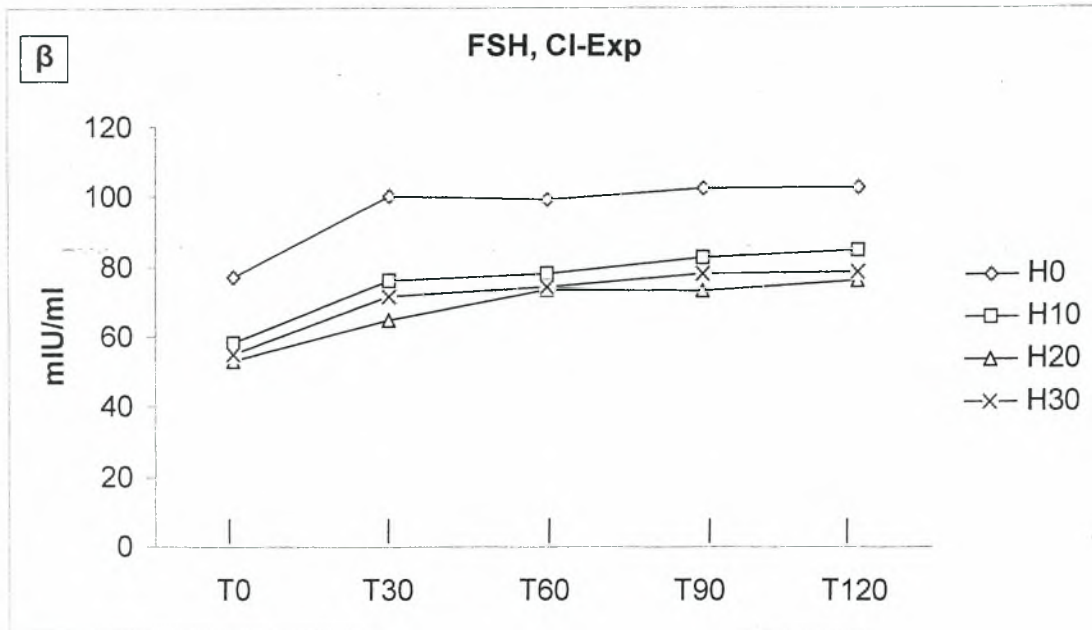
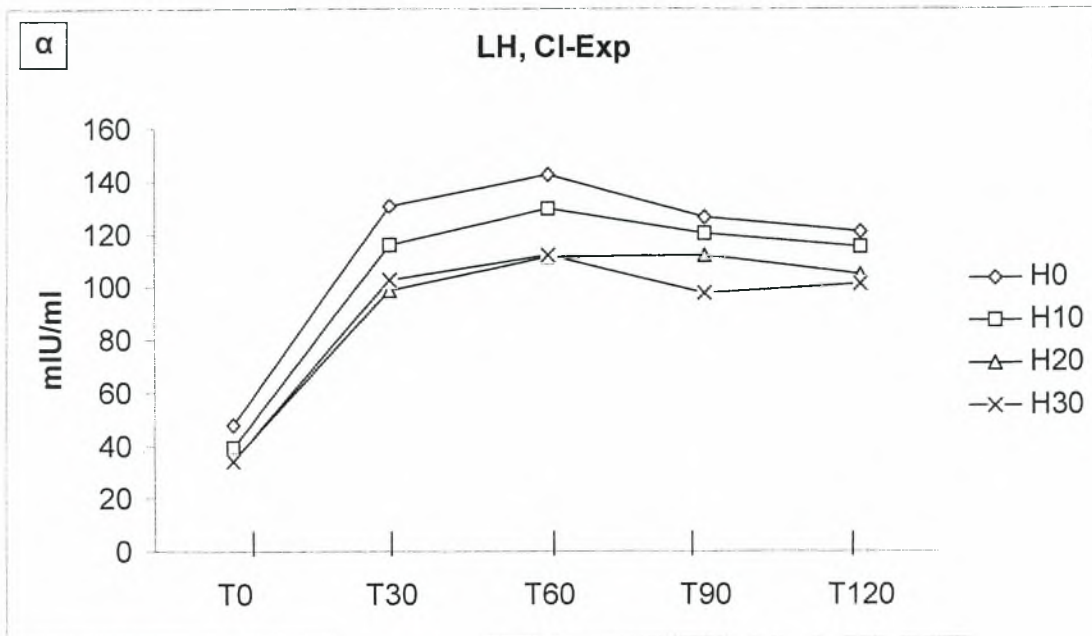
**LH:** Σε όλες τις ημέρες της μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P < 0,001$ ) των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της LH μεταξύ των στιγμών T30, T60, T90 και T120 μόνο κατά τις ημέρες H0 και H10. Συγκεκριμένα, σημαντική αύξηση σε σχέση με την T30, παρατηρήθηκε κατά τη μέτρηση T60,

ενώ σημαντική μείωση ( $P<0,05$ ) από την τιμή αυτή παρατηρήθηκε κατά τη μέτρηση T120. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της LH μεταξύ των μετρήσεων T30, T60, T90 και T120 κατά τις ημέρες H20 και H30. Σε όλες τις ημέρες μελέτης η υψηλότερη τιμή της LH παρατηρήθηκε κατά την μέτρηση T60, ενώ και στις τέσσερις χρονικές στιγμές (T30-T120) τα επίπεδα της LH παρέμειναν σημαντικά μεγαλύτερα ( $P<0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας. Στο **Σχήμα 15 (α και β)** φαίνονται οι μεταβολές των επιπέδων της LH και της FSH ως απάντηση στη GnRH, κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120)

**FSH:** Σε όλες τις ημέρες μελέτης παρατηρείται στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P<0,001$ ) των επιπέδων της FSH κατά τη μέτρηση T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της FSH μεταξύ των στιγμών T30, T60, T90 και T120 μόνο κατά την ημέρα H20 ( $P=0,005$ ). Συγκεκριμένα, κατά την H20 παρατηρήθηκε σε σχέση με την T30 σημαντική αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T60, T90 και T120, όπου και παρατηρήθηκε η υψηλότερη τιμή της FSH. Σε όλες τις ημέρες μελέτης και στις τέσσερις χρονικές στιγμές (T30-T120), τα επίπεδα της FSH παρέμειναν σημαντικά υψηλότερα ( $P<0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας (**Σχήμα 15 β**).

Στη συνέχεια, έγινε συγκριτική μελέτη των μεταβολών των επιπέδων της LH και της FSH σε σχέση με τη βασική έκκριση σε όλες τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) της CI-Exp.





**Σχήμα 15.** Διακύμανση των επιπέδων (μέση τιμή) της LH (α) και της FSH (β) τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120) ως απάντηση στη GnRH στις γυναίκες της Ομάδας B κατά την CI-Exp.



### ***Σύγκριση των μεταβολών της LH***

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,097$ ) μεταξύ των μεταβολών αυτών κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T30 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H0 σε σχέση με την H30 και κατά την H10 σε σχέση με τις H20 και H30.

**T0-T60:** Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,047$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T60 σε σχέση με την βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα, σημαντικά μεγαλύτερη ( $P<0,010$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T60 παρατηρήθηκε κατά την ημέρα H0 σε σχέση με τις H20 και H30.

**T0-T90:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,098$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με την βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά τις H0 και H10 σε σχέση με την H30.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,831$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με την βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

### ***Σύγκριση των μεταβολών της FSH***

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,051$ ) μεταξύ των T0 και T30 κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη

σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H0 σε σχέση με τις H20 και H30.

**T0-T60:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,759$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T60 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

**T0-T90:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,606$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,931$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

## 2) R-Exp

Στον Πίνακα 12 αναγράφονται οι τιμές της LH και της FSH στις γυναίκες της Ομάδας Β κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη χορήγηση της GnRH σε όλες τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) κατά την R-Exp.

**LH:** Σε όλες τις ημέρες μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P<0,001$ ) των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της LH κατά τις στιγμές T30-T120 μόνο κατά τις ημέρες H0 και H10. Συγκεκριμένα, σημαντική αύξηση, σε σχέση με την T30, παρατηρήθηκε κατά τη στιγμή T60, ενώ σημαντική μείωση από την τιμή αυτή παρατηρήθηκε κατά τη στιγμή T120. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της LH μεταξύ των στιγμών T30, T60, T90 και T120

κατά τις ημέρες H20 και H30. Σε όλες τις ημέρες μελέτης η υψηλότερη τιμή της LH παρατηρήθηκε κατά την στιγμή T60, ενώ και στις τέσσερις στιγμές (T30-T120) τα επίπεδα της LH παρέμειναν σημαντικά υψηλότερα ( $P < 0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας. Στο **Σχήμα 16 (α και β)** φαίνονται οι μεταβολές των επιπέδων της LH και της FSH ως απάντηση στη GnRH κατά τις ημέρες H0, H10, H20 και H30 σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120).

**Πίνακας 12.** Επίπεδα LH και FSH (μέση τιμή  $\pm$  SEM) στις γυναίκες της Ομάδας B κατά τις χρονικές στιγμές T0, T30, T60, T90 και T120 μετά τη χορήγηση της GnRH τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) της R-Exp (\*: Το P αντιστοιχεί σε συγκρίσεις μεταξύ των χρονικών στιγμών T30 - T120).

	Χρονικές στιγμές των αιμοληψιών					P*
	T0	T30	T60	T90	T120	
<b>LH</b>						
H0	48,1 $\pm$ 9,8	113 $\pm$ 20,8	120 $\pm$ 20,8	119 $\pm$ 18,0	106 $\pm$ 19,4	0,057
H10	26,1 $\pm$ 3,5	71,6 $\pm$ 9,3	93,1 $\pm$ 16,2	85,1 $\pm$ 11,2	80,8 $\pm$ 11,2	0,027
H20	32,1 $\pm$ 4,2	86,5 $\pm$ 11,3	100 $\pm$ 9,5	97,9 $\pm$ 9,7	93,7 $\pm$ 11,6	0,260
H30	37,0 $\pm$ 16,1	107 $\pm$ 13,4	119 $\pm$ 15,5	110 $\pm$ 15,9	112 $\pm$ 18,0	0,265
<b>FSH</b>						
H0	77,7 $\pm$ 10,4	90,8 $\pm$ 11,3	100 $\pm$ 12,7	96,1 $\pm$ 11,1	94,9 $\pm$ 11,1	0,039
H10	50,3 $\pm$ 6,1	55,9 $\pm$ 6,3	65,3 $\pm$ 5,9	67,1 $\pm$ 8,2	67,0 $\pm$ 7,3	0,031
H20	47,7 $\pm$ 4,6	57,2 $\pm$ 6,4	63,8 $\pm$ 6,0	69,2 $\pm$ 7,5	67,2 $\pm$ 7,8	0,007
H30	57,7 $\pm$ 6,4	71,9 $\pm$ 9,2	82,2 $\pm$ 8,5	86,5 $\pm$ 9,8	85,8 $\pm$ 9,3	0,001

**FSH:** Σε όλες τις ημέρες μελέτης παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική αύξηση ( $P < 0,01$ ) των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T30 σε σχέση με την τιμή της βασικής έκκρισης (T0) της αντίστοιχης ημέρας. Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές των επιπέδων της FSH μεταξύ των

στιγμών T30, T60, T90 και T120 σε όλες τις ημέρες μελέτης. Συγκεκριμένα, κατά τις ημέρες H10, H20 και H30, παρατηρήθηκε σε σχέση με την T30 σημαντική αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T60, T90 και T120. Η υψηλότερη τιμή της FSH κατά τις ημέρες αυτές παρατηρήθηκε κατά την T90. Κατά την H0 παρατηρήθηκε σε σχέση με την T30 σημαντική αύξηση των επιπέδων της FSH κατά την T60, όπου και παρατηρήθηκε η υψηλότερη τιμή της FSH κατά την ημέρα αυτή. Σε όλες τις ημέρες μελέτης και στις τέσσερις χρονικές στιγμές (T30-T120) τα επίπεδα της FSH παρέμειναν σημαντικά μεγαλύτερα ( $P < 0,001$ ) από τη βασική τιμή της αντίστοιχης ημέρας (**Σχήμα 16 β**).

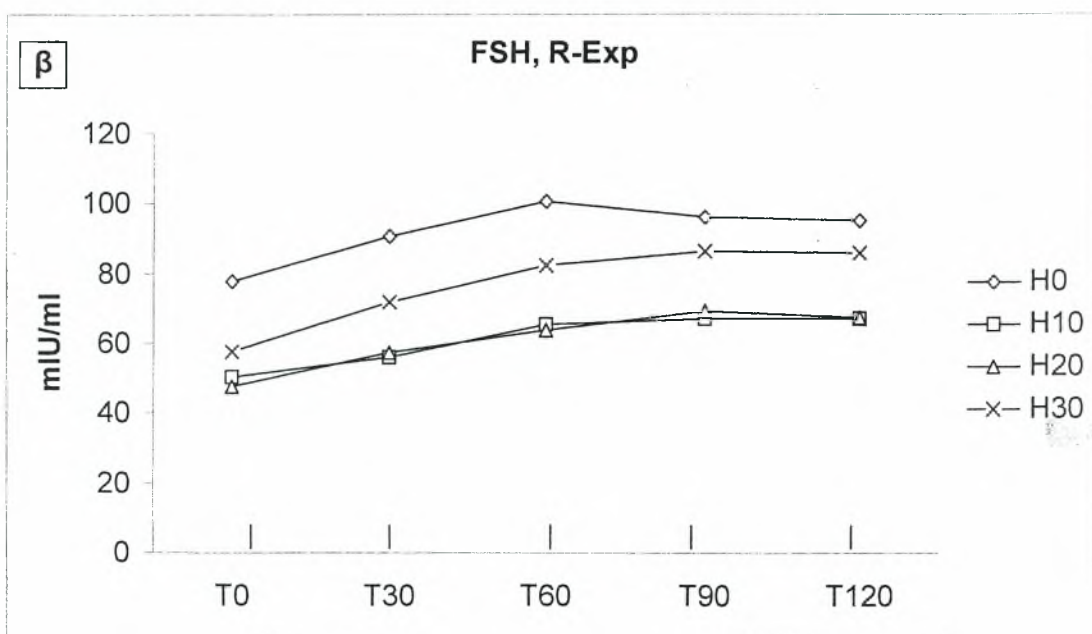
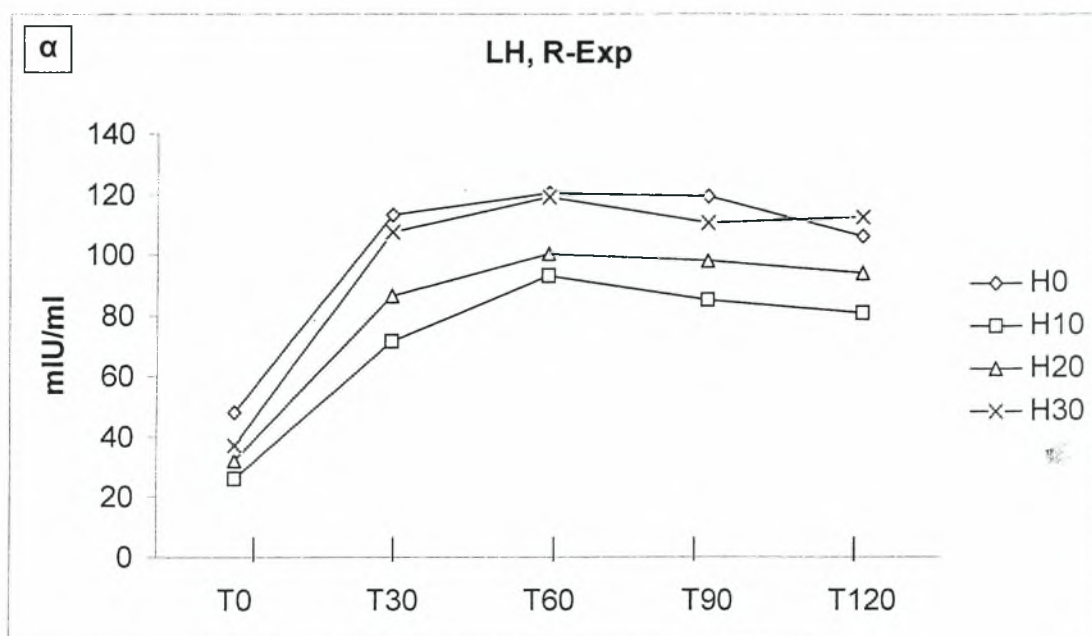
Στη συνέχεια, έγινε συγκριτική μελέτη των μεταβολών των επιπέδων της LH και της FSH σε σχέση με τη βασική έκκριση σε όλες τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) της R-Exp.

### ***Σύγκριση μεταβολών της LH***

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,129$ ) μεταξύ των T0 και T30 κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P > 0,10$ ) αύξηση των επιπέδων της LH κατά την T30 παρατηρήθηκε κατά τις ημέρες H0 και H30 σε σχέση με την H10.

**T0-T60:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,487$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T60 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

**T0-T90:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,232$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη



**Σχήμα 16.** Διακύμανση των επιπέδων (μέση τιμή) της LH (α) και της FSH (β) τις ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30) σε όλες τις χρονικές στιγμές (T0, T30, T60, T90 και T120) ως απάντηση στη GnRH στις γυναίκες της Ομάδας B κατά την R-Exp.

βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H0 σε σχέση με την H10.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,112$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της LH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με τις H0 και H10.

### **Σύγκριση των μεταβολών της FSH**

**T0-T30:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,137$ ) μεταξύ T0 και T30 κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά τις H0 και H30 σε σχέση με την H10.

**T0-T60:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,134$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T60 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με την H20.

**T0-T90:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,130$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T90 σε σχέση με τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης.

**T0-T120:** Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P=0,128$ ) μεταξύ των μεταβολών των επιπέδων της FSH κατά τη στιγμή T120 σε σχέση με

τη βασική τιμή της ορμόνης αυτής κατά τις ημέρες μελέτης. Ενδεικτικά μεγαλύτερη αλλά μη σημαντική ( $P>0,10$ ) ήταν η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την H30 σε σχέση με τις H0 και H10.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### A. ΒΑΣΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ LH, FSH ΚΑΙ PRL.

Η παρούσα μελέτη συγκρίνει για πρώτη φορά τη δράση της ραλοξιφαίνης και της κλομιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών ορμονών σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων φαίνεται πως οι δύο αυτοί παράγοντες έχουν διαφορετική βιολογική δράση. Συγκεκριμένα από την ανάλυση των αποτελεσμάτων κατά Ομάδα (A και B), προκύπτουν τα παρακάτω.

Στην Ομάδα A κατά την R-Exp και στις 8 γυναίκες χορηγήθηκε για ένα μήνα ραλοξιφαίνη σε δόση 180 mg/ημέρα, ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες προστέθηκε και οιστραδιόλη διαδερμικά υπό τη μορφή αυτοκόλλητων ετικετών. Κατά την Cl-Exp και στις 8 γυναίκες χορηγήθηκε για ένα μήνα κλομιφαίνη σε δόση 150 mg/ημέρα, ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες προστέθηκε και οιστραδιόλη διαδερμικά υπό τη μορφή αυτοκόλλητων ετικετών.

Από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων κατά την R-Exp, φαίνεται πως η ραλοξιφαίνη δεν προκάλεσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταβολή των επιπέδων των βασικών τιμών ούτε της LH ούτε της FSH ούτε και της προλακτίνης, κατά τις τέσσερις διαφορετικές ημέρες μελέτης (H0, H10, H20 και H30). Αξίζει να σημειωθεί πως τα επίπεδα των βασικών τιμών των παραπάνω ορμονών δεν μεταβλήθηκαν ούτε την ημέρα H30 σε σχέση με την ημέρα H20, κατά την οποία άρχισε η συγχορήγηση της οιστραδιόλης.



Κατά την CI-Exp, από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, φαίνεται πως τα επίπεδα των βασικών τιμών τόσο της LH όσο και της FSH μειώθηκαν τις ημέρες H10, H20 και H30, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σχέση με την ημέρα H0. Τα επίπεδα της προλακτίνης δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή και κατά τις τέσσερις μετρήσεις.

Από τα αποτελέσματα φαίνεται πως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με τα τυπικά χαμηλά επίπεδα οιστρογόνων η κλομιφαίνη εμφάνισε μία οιστρογονική δραστηριότητα με το να προκαλέσει σημαντική μείωση των επιπέδων της FSH και της LH, ενώ η χορήγηση της ραλοξιφαίνης δεν είχε καμία δράση πάνω στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Αν και η οιστραδιόλη όταν χορηγήθηκε μόνη της στις γυναίκες της Ομάδας B προκάλεσε σημαντική πτώση των επιπέδων των γοναδοτροπινών, το στεροειδές αυτό δεν εμφάνισε την ίδια δράση όταν χορηγήθηκε στις γυναίκες της Ομάδας A, οι οποίες είχαν λάβει προηγουμένως ραλοξιφαίνη για 20 ημέρες. Επίσης, όταν η οιστραδιόλη χορηγήθηκε από την H20 ως και την H30 στις γυναίκες της Ομάδας A, οι οποίες είχαν λάβει κλομιφαίνη κατά τις προηγούμενες 20 ημέρες, δεν μετέβαλε την πτωτική τάση των γοναδοτροπινών, η οποία είχε προκληθεί από τη χορήγηση της κλομιφαίνης.

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως η ραλοξιφαίνη και η κλομιφαίνη μετά τη χορήγησή τους κατέλαβαν τους οιστρογονικούς υποδοχείς, με αποτέλεσμα να είναι αδύνατο για την οιστραδιόλη να ασκήσει τη δράση της στους οιστρογονικούς υποδοχείς.

Για τη δράση της ραλοξιφαίνης πάνω στον υποθαλαμο-υποφυσιωθηκικό άξονα και ειδικότερα στην έκκριση των γοναδοτροπινών ορμονών, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι πτωχά. Διάφορες μελέτες *in vitro* ή σε πειραματόζωα έχουν δώσει επίσης διαφορετικά αποτελέσματα.

Οι Clemens et al. (1983) χορήγησαν σε αρουραίους, που είχαν υποβληθεί σε ωθηκεκτομή, οιστραδιόλη, η οποία προκάλεσε μείωση των πρωινών και αύξηση των απογευματινών επιπέδων της LH. Η προσθήκη ραλοξιφαίνης εμπόδισε την πρωινή πτώση των επιπέδων της LH, που προκάλεσε η οιστραδιόλη, ενώ δεν εμπόδισε την απογευματινή άνοδο αυτών. Οι Simard et al. (1985) διαπίστωσαν πως η προσθήκη ραλοξιφαίνης σε καλλιέργειες κυττάρων από την πρόσθια υπόφυση αρουραίων, τα οποία είχαν επωαστεί προηγουμένως με οιστραδιόλη, εμπόδισε την αύξηση τόσο της βασικής όσο και της μετά από χορήγηση GnRH απελευθέρωσης της LH, που προκάλεσε φυσιολογικά η χορήγηση οιστραδιόλης.

Τόσο τα παραπάνω ευρήματα όσο και αυτά της μελέτης των Ortmann et al. (1988), οι οποίοι χρησιμοποίησαν καλλιέργειες κυττάρων από την πρόσθια υπόφυση ωθηκεκτομηθέντων αρουραίων, δείχνουν πως η ραλοξιφαίνη ασκεί αντιοιστρογονική δράση στα γοναδοτρόπα κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσης των αρουραίων, όταν συνυπάρχει οιστρογονικό περιβάλλον.

Επίσης, σε *in vitro* μελέτη βρέθηκε πως η ραλοξιφαίνη προκαλεί σε κύτταρα του υποθαλάμου, τα οποία έχουν επωαστεί προηγουμένως για δύο ημέρες με οιστραδιόλη, μείωση των υποδοχέων της προγεστερόνης, δράση που χαρακτηρίζεται από τους συγγραφείς ως αντιοιστρογονική (Fitzpatrick et al., 1999).

Σε μία πιο πρόσφατη μελέτη, οι Pinilla et al. (2001) χορήγησαν ραλοξιφαίνη σε αρουραίους οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε ωθηκεκτομία και εξέτασαν τη δράση της στο υποθαλαμο-υποφυσιακό σύστημα. Διαπίστωσαν πως η ραλοξιφαίνη ανέστειλε την υπερέκκριση της LH, που παρατηρήθηκε στους ωθηκεκτομηθέντες αρουραίους και αύξησε την έκκριση της PRL. Και τα δύο αυτά ευρήματα είναι ενδεικτικά μίας οιστρογονικής δραστηριότητας της ραλοξιφαίνης, σε ό,τι αφορά στην έκκριση της LH και της PRL σε ωθηκεκτομηθέντες θήλειους αρουραίους.

Μέχρι σήμερα έχουν δημοσιευτεί τρεις μόνο μελέτες, που αναφέρονται στην επίδραση της ραλοξιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών ορμονών στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, των οποίων τα αποτελέσματα είναι αντιφατικά. Στις δύο από αυτές (Reindollar et al., 2002 και Lasco et al., 2002) οι υπό μελέτη μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Στη μία ομάδα οι γυναίκες έλαβαν ραλοξιφαίνη 60mg/ημέρα για 3-6 μήνες, ενώ οι γυναίκες της άλλης ομάδας έλαβαν κατά το αντίστοιχο χρονικό διάστημα εικονικό φάρμακο και χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου. Στη μελέτη των Reindollar et al. (2002) οι συγγραφείς διαπίστωσαν πως η ραλοξιφαίνη προκάλεσε ύστερα από χορήγηση 3 μηνών σε στατιστικά σημαντικό βαθμό πτώση των επιπέδων της FSH ( $P=0.019$ ) και αύξηση των επιπέδων της δεσμευτικής πρωτεΐνης των ορμονών του φύλλου (SHBG) και της δεσμευτικής πρωτεΐνης της θυροξίνης (TBG), διαπίστωση που συνάδει με μία οιστρογονική δράση της ραλοξιφαίνης, όταν χορηγείται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η μελέτη των Lasco et al. (2002) διαπίστωσε πως η χορήγηση ραλοξιφαίνης για 3-6 μήνες δεν προκάλεσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταβολή των επιπέδων της FSH και της LH, ενώ προκάλεσε μία σημαντική πτώση των επιπέδων της PRL. Τέλος, σε μία τρίτη μελέτη, οι Malacafra et al. (2001) χορήγησαν σε παχύσαρκες και λεπτόσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες 120 mg ραλοξιφαίνης/ημέρα για χρονικό διάστημα δύο εβδομάδων και μέτρησαν τα επίπεδα των βασικών τιμών διαφόρων ορμονών, συμπεριλαμβανομένων και των γοναδοτροπινών πριν και μετά τη χορήγηση της ραλοξιφαίνης. Οι συγγραφείς διαπίστωσαν οριακή μόνο πτώση των βασικών επιπέδων της FSH ( $P=0,057$ ), η οποία εμφανίστηκε μόνο στις λεπτόσαρκες γυναίκες, ενώ τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της LH δεν εμφάνισαν καμία μεταβολή.

Για τη δράση της ραλοξιφαίνης στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας υπάρχει μία μόνο σχετική μελέτη (Baker et al. 1998). Κατά τη μελέτη αυτή, χορηγήθηκε ραλοξιφαίνη σε δύο ομάδες γυναικών, που σε προηγούμενους κύκλους είχαν διαπιστωμένη φυσιολογική

ωοθυλακιορρηξία. Στη μία ομάδα η ραλοξιφαίνη χορηγήθηκε για χρονικό διάστημα 5 ημερών σε διάφορα στάδια του εμμηνορρυσιακού κύκλου και στην άλλη ομάδα για χρονικό διάστημα 28 ημερών σε δύο διαφορετικές δόσεις και μελετήθηκε η δράση της στο ορμονικό προφίλ και στο ενδομήτριο. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η ραλοξιφαίνη στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας έχει οιστρογονική δράση όσον αφορά στη σύνθεση της SHBG από το ήπαρ και αντιοιστρογονική δράση στον άξονα υποθάλαμος- υπόφυση, η οποία δεν αναστέλλει την ωοθυλακιορρηξία. Συγκεκριμένα, σε ό,τι αφορά στο ορμονικό προφίλ των υπό μελέτη γυναικών, η ραλοξιφαίνη φάνηκε να αυξάνει ή να αφήνει αμετάβλητα τα επίπεδα της FSH και να μειώνει σε ορισμένες περιπτώσεις τα επίπεδα της PRL κατά 10-35%, μεταβολές που αμφότερες συνηγορούν υπέρ μίας αντιοιστρογονικής δράσης στο επίπεδο του υποθαλάμου και της υπόφυσης.

Σε ό,τι αφορά στην επίδραση της ραλοξιφαίνης στις βασικές τιμές των γοναδοτροπινών τα δικά μας αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με αυτά των Lasco et al. (2002), αλλά όχι με τα αποτελέσματα των Reindollar et al. (2002), στη μελέτη των οποίων φαίνεται πως η ραλοξιφαίνη προκάλεσε σημαντική πτώση των επιπέδων της FSH, όταν χορηγήθηκε για 3 μήνες σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ο αριθμός των υπό μελέτη γυναικών ήταν μεγαλύτερος στη μελέτη των Reindollar et al. (2002) σε σχέση με τον αριθμό της παρούσας μελέτης. Ωστόσο οι συγγραφείς δεν συσχέτισαν και το BMI των υπό μελέτη γυναικών με τη μεταβολή των επιπέδων της FSH, αφού κατά τους Malacara et al. (2001) οι παχύσαρκες και οι λεπτόσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες συμπεριφέρθηκαν διαφορετικά ύστερα από τη χορήγηση της ραλοξιφαίνης σε ό,τι αφορά στα επίπεδα της FSH. Ο μικρός αριθμός γυναικών της παρούσας μελέτης δεν επέτρεψε το διαχωρισμό τους σε παχύσαρκες και λεπτόσαρκες.

Σε ό,τι αφορά στην κλομιφαίνη, η ικανότητά της να προκαλεί σε υποοιστρογονικές / μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες πτώση των επιπέδων των γοναδοτροπινών είναι γνωστή από προηγούμενες μελέτες. Ο πιθανότερος μηχανισμός της δράσης αυτής, που ασκείται τόσο στο επίπεδο του υποθαλάμου όσο και της υπόφυσης, φαίνεται να είναι οι οιστρογονικές ιδιότητες που έχει η κλομιφαίνη όταν βρίσκεται σε πτωχό οιστρογονικό περιβάλλον (Hashimoto et al., 1976, Czygan et al., 1972, Clark et al., 1982, Adashi, 1984 ). Υπό τις συνθήκες αυτές, φαίνεται, να ασκεί οιστρογονική δράση μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων του υποθαλαμο-υποφυσιακού συστήματος, με αποτέλεσμα να προκαλεί αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Αντίθετα, σε γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας ή σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα οιστρογόνων, η κλομιφαίνη όταν χορηγείται φαίνεται να ασκεί αντιοιστρογονική δράση και κατά συνέπεια να προκαλεί αύξηση των επιπέδων των γοναδοτροπινών (Messinis and Templeton, 1990).

Ήδη από το 1970 οι Vaitukaitis et al., έκαναν λόγο σε μία εργασία τους για την οιστρογονική δράση της κλομιφαίνης στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Το 1972 οι Czygan et al., παρατήρησαν τη διπλή (αντιοιστρογονική και οιστρογονική) δράση της κλομιφαίνης, στις γυναίκες. Τα ευρήματά τους συνοψίζονται ως εξής: (α) στις ευγοναδοτροπικές γυναίκες η κλομιφαίνη διεγείρει την έκλυση των FSH και LH και (β) στις μετεμμηνοπαυσιακές με τις τυπικά υψηλές τιμές γοναδοτροπινών, η χορήγηση της κλομιφαίνης προκαλεί μείωση των επιπέδων των γοναδοτροπινών. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν επίσης και με τη μεταγενέστερη μελέτη των Hashimoto et al. (1976), που αναφέρει τη διπλή δράση της κλομιφαίνης (οιστρογονική και αντιοιστρογονική) στην έκκριση των γοναδοτροπινών στις γυναίκες ανάλογα με τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων.

Αξίζει να σημειωθεί πως σε μία άλλη μελέτη οι Ravid et al. (1977) χορήγησαν, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ακέραιες ωοθήκες και σε

γυναίκες που είχαν υποβληθεί σε υστερεκτομία με αμφοτερόπλευρη ωοθηκεκτομή, κλομιφαίνη 150mg/ημέρα και διαπίστωσαν πως η πτώση των γοναδοτροπινών ήταν πιο εκσεσημασμένη και σταθερότερη στις γυναίκες που είχαν υποβληθεί σε ωοθηκεκτομή, σε σχέση με αυτές που ήταν μετεμμηνοπαυσιακές αλλά είχαν ακέραιες ωοθήκες.

Αν και στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές μελέτες που εξετάζουν την επίδραση της κλομιφαίνης στα επίπεδα των γοναδοτροπινών των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, σε καμία από αυτές δεν μελετήθηκε η επίδρασή της πάνω στην έκκριση των γοναδοτροπινών εμμηνοπαυσιακών γυναικών, στις οποίες πρώτα χορηγήθηκε κλομιφαίνη και στη συνέχεια προστέθηκε και οιστραδιόλη. Οι μέχρι σήμερα μελέτες αφορούσαν μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις οποίες χορηγούνταν είτε κλομιφαίνη μόνο είτε οιστρογόνα και στη συνέχεια προσθέτονταν και κλομιφαίνη μετά από άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα (Czygan et al., 1972 Hashimoto et al., 1976). Το ότι στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα των γοναδοτροπινών δεν μεταβλήθηκαν από την Η20 έως την Η30 -χρονικό διάστημα κατά το οποίο προστέθηκε και οιστραδιόλη- πιθανώς σημαίνει, όπως ήδη προαναφέρθηκε, πως η κλομιφαίνη δέσμευσε τους οιστρογονικούς υποδοχείς, με αποτέλεσμα να μην μπορεί η οιστραδιόλη να ασκήσει τη δράση της.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η χορήγηση της ραλοξιφαίνης δεν φαίνεται να ασκεί κάποια δράση στη βασική έκκριση των γοναδοτροπινών, ενώ η δράση της κλομιφαίνης στις γυναίκες αυτές είναι οιστρογονική, αφού μετά τη χορήγησή της παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική πτώση των επιπέδων των γοναδοτροπινών. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς του υποθαλαμο-υποφυσιακού συστήματος φαίνεται να δεσμεύτηκαν τόσο από τη ραλοξιφαίνη όσο και από την κλομιφαίνη, οπότε αν τα οιστρογόνα ασκούσαν κάποια δράση αυτή θα έπρεπε να μην είναι μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων.



Σε ό,τι αφορά στη δράση των SERMs στην έκκριση της PRL υπάρχουν μερικές μελέτες των οποίων τα αποτελέσματα διαφέρουν. Κατά τους Pinilla et al. (2001) η συνεχής χορήγηση ραλοξιφαίνης για χρονικό διάστημα 5 ημερών σε ωθηκεκτομηθέντες αρουραίους προκάλεσε αύξηση των επιπέδων της PRL, δράση που χαρακτηρίζεται από τους συγγραφείς ως οιστρογονική. Σε άλλη μελέτη (Spritzer et al., 1996) η συνεχής χορήγηση ταμοξιφαίνης για χρονικό διάστημα μερικών ημερών σε ωθηκεκτομηθέντες αρουραίους, που είχαν λάβει προθεραπεία με οιστραδιόλη για χρονικό διάστημα 2-10 εβδομάδων, δεν προκάλεσε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της PRL. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καρκίνο του μαστού, που έλαβαν ταμοξιφαίνη για χρονικό διάστημα 6 μηνών, τα επίπεδα της PRL μετά το πέρας της εξάμηνης θεραπείας ήταν μειωμένα σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, σε σχέση με αυτά πριν από την έναρξη της θεραπείας με την ταμοξιφαίνη (Kostoglou-Athanassiou et al., 1997). Παρόμοια δράση στην έκκριση της PRL στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες φαίνεται να έχει και η ραλοξιφαίνη, κατά τους Lasco et al. (2002).

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας διαφέρουν από αυτά των Lasco et al. (2002), υπό την έννοια πως στη δική μας μελέτη η χορήγηση τόσο της ραλοξιφαίνης σε δόση 180 mg/ημέρα, όσο και της κλομιφαίνης σε δόση 150 mg/ημέρα για χρονικό διάστημα ενός μήνα δεν επηρέασε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό τα επίπεδα της PRL. Στατιστικά μη σημαντική μεταβολή των επιπέδων της προλακτίνης παρατηρήθηκε και σε μία άλλη μελέτη (Draper et al., 1995), που αφορούσε υγιείς άνδρες, στους οποίους χορηγήθηκε ραλοξιφαίνη για τρεις ημέρες, -σε ένα από τα στάδια της μελέτης τους- και δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα των βασικών τιμών των γοναδοτροπινών και της προλακτίνης, πριν και μετά από τη χορήγηση του φαρμάκου. Όμως το χρονικό διάστημα της χορήγησης της ραλοξιφαίνης ήταν πολύ μικρό.

Από τις μελέτες των Lasco et al. (2002), που αφορούσε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και Baker et al. (1998), που αφορούσε γυναίκες

στην αναπαραγωγική ηλικία, φαίνεται πως η χορήγηση της ραλοξιφαίνης τόσο στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες όσο και στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας αναστέλλει την έκκριση της προλακτίνης. Αν θεωρήσουμε πως αυτό συμβαίνει ανεξάρτητα από τις μεγάλες διαφορές στα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων, που φυσιολογικά υπάρχουν στις δύο αυτές ηλικιακές ομάδες και τα οποία μπορεί να παίζουν ρόλο στην έκκριση της προλακτίνης, τότε ίσως η ραλοξιφαίνη να ασκεί άμεση ανασταλτική δράση στην έκκριση της προλακτίνης, ή να δρα μέσω άλλου μηχανισμού, στον οποίο δεν συμμετέχουν τα οιστρογόνα.

Στην Ομάδα Β κατά την CI-Exp και στις 8 γυναίκες χορηγήθηκε για ένα μήνα οιστραδιόλη διαδερμικά, υπό τη μορφή αυτοκόλλητων ετικετών, ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες προστέθηκε κλομιφαίνη σε δόση 150 mg/ημέρα. Κατά την R-Exp και στις 8 γυναίκες χορηγήθηκε για ένα μήνα οιστραδιόλη διαδερμικά, υπό τη μορφή αυτοκόλλητων ετικετών, ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες προστέθηκε και ραλοξιφαίνη σε δόση 180 mg/ημέρα.

Από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων κατά την CI-Exp, φαίνεται πως τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της LH, εμφανίζουν μία σταδιακή πτώση από την H0 μέχρι την H20 ενώ κατά την H30, έχουν περίπου την ίδια τιμή με αυτή της H20. Αντίστοιχα, τα επίπεδα της FSH εμφανίζουν και αυτά μία πτώση από την H0-H20, ενώ κατά την H30 οι τιμές τους παραμένουν σχεδόν στα ίδια επίπεδα με αυτά της H20.

Και κατά τη διάρκεια της R-Exp, η συμπεριφορά των επιπέδων των γοναδοτροπινών είναι παρόμοια με αυτή κατά την CI-Exp. Ειδικότερα, ως συνέπεια της χορήγησης της οιστραδιόλης τα επίπεδα τόσο της LH όσο και της FSH έχουν μία πτωτική τάση μέχρι και την H20. Στη συνέχεια, από την H20 έως και την H30, εμφανίζουν μία ανοδική τάση η οποία στην περίπτωση της FSH



είναι σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Η άνοδος των επιπέδων της LH ήταν μικρότερη, στατιστικά μη σημαντική.

Φαίνεται, όπως ήταν αναμενόμενο, πως ως συνέπεια της χορήγησης της οιστραδιόλης τα επίπεδα των γοναδοτροπινών μειώθηκαν, ενώ μετά την H20, κατά την οποία άρχισε η συγχορήγηση και της κλομιφαίνης ή της ραλοξιφαίνης, παρατηρήθηκε τουλάχιστον μία διακοπή στην πτωτική τάση των επιπέδων των γοναδοτροπινών και κατά την R-Exp σημαντική άνοδος των επιπέδων της FSH. Επιπλέον, φαίνεται πως η κλομιφαίνη και η ραλοξιφαίνη, που ανήκουν στα SERMS και ασκούν αντιοιστρογονική δράση σε διάφορους ιστούς-στόχους, ασκούν και στη βασική έκκριση των γοναδοτροπινών αντιοιστρογονική δράση, η οποία είναι εμφανής όταν οι γυναίκες έχουν λάβει προθεραπεία με οιστραδιόλη. Η αντιοιστρογονική δράση της κλομιφαίνης δεν ήταν παρούσα στην μελέτη μας και αυτό είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα μίας προηγούμενης μελέτης (Kaupilla et al., 1981). Για το αν η ραλοξιφαίνη ασκεί πιο ισχυρή αντιοιστρογονική δράση σε σχέση με την κλομιφαίνη, σε ό,τι αφορά στην έκκριση των γοναδοτροπινών, απαιτούνται δοσο-ισοδύναμες μελέτες. Στη μελέτη μας, λαμβάνοντας υπόψη τις δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν φαίνεται, πως η ραλοξιφαίνη ασκεί πιο ισχυρή αντιοιστρογονική δράση σε σχέση με την κλομιφαίνη, σε ό,τι αφορά στη βασική έκκριση των γοναδοτροπινών στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έχουν λάβει προθεραπεία με οιστραδιόλη.

Η μη σημαντική μεταβολή των βασικών επιπέδων της LH και της FSH κατά την CI-Exp, μεταξύ των ημερών H20 και H30, είναι σύμφωνη με τα αποτελέσματα των Kaupilla et al. (1981) που χορήγησαν σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που έπαιρναν θεραπεία υποκατάστασης μόνο με οιστρογόνα, για 10 ημέρες κλομιφαίνη και διαπίστωσαν πως τα επίπεδα της LH, της FSH και της προλακτίνης, πριν και μετά τη χορήγηση της κλομιφαίνης δεν μεταβλήθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό.

Ο τρόπος και ο τόπος δράσης της κλομιφαίνης παραμένει ακόμα όχι ξεκάθαρος και αναμφίβολα μετά την ανακάλυψη του οιστρογονικού υποδοχέα -β (ER-β) θα πρέπει να εξεταστεί υπό νέα οπτική γωνία και να γίνουν περαιτέρω μελέτες για τη δράση της κλομιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Παράγοντες όπως ο μεγάλος χρόνος ημίσειας ζωής της κλομιφαίνης σε σχέση με τα οιστρογόνα, η σχετική χημική συγγένεια των ανωτέρω ουσιών με τους δύο οιστρογονικούς υποδοχείς, καθώς και η διαφορετική δοσολογία των χορηγούμενων ουσιών υπεισέρχονται στην αλληλεπίδραση των ουσιών αυτών, (Clark et al., 1982, Adashi, 1984).

Η δράση της ραλοξιφαίνης υπό τις παρούσες συνθήκες είναι αντιοιστρογονική, ανταγωνίζεται δηλαδή την δράση των οιστρογόνων. Ωστόσο δεν υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία δεδομένα από ανάλογες μελέτες για να συγκρίνουμε τα δικά μας αποτελέσματα με άλλα υπάρχοντα, παρά μόνο αυτή των Baker et al. (1998), που αφορά γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, δηλαδή γυναίκες στις οποίες υπήρχε βιολογική δράση ενδογενών οιστρογόνων και της οποίας τα ευρήματα είναι σε συμφωνία με τα δικά μας. Στη μελέτη αυτή οι συγγραφείς χορήγησαν σε υγιείς γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας για 5 ημέρες ραλοξιφαίνη σε διάφορα στάδια του εμμηνορυσιακού κύκλου και διαπίστωσαν πως η AUC της FSH, τόσο κατά τα πενήνήμερα διαστήματα που χορηγούνταν η ραλοξιφαίνη, όσο και στο σύνολο του κύκλου ήταν αυξημένη (15-20%,  $P \leq 0,03$ ), σε σχέση με τις ίδιες γυναίκες όταν δεν τους χορηγήθηκε ραλοξιφαίνη.

Σε ό,τι αφορά στην προλακτίνη, στη παρούσα μελέτη κατά την CI-Exp τα επίπεδά της αυξήθηκαν σημαντικά μετά από τη χορήγηση της οιστραδιόλης, ενώ από την H20 έως και την H30 εμφάνισαν πτώση σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Στις υπογοναδικές / μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες καθώς και στις γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας η χορήγηση οιστραδιόλης προκαλεί αύξηση των επιπέδων της PRL (Ehara et al., 1976, Messinis and Templeton, 1988, Yen et al., 1974). Θεωρώντας λοιπόν δεδομένο πως η χορήγηση της οιστραδιόλης προκαλεί αύξηση στα επίπεδα της προλακτίνης, μπορούμε να πούμε πως η

πτώση των επιπέδων της, μετά από τη χορήγηση της κλομιφαίνης, αποτελεί μία ακόμη ένδειξη της αντιοιστρογονικής δράσης της κλομιφαίνης, όταν συνυπάρχουν ικανοποιητικά επίπεδα οιστρογόνων.

Συμπερασματικά στην Ομάδα Β κατά τη διάρκεια τόσο της Cl-Exp όσο και της R-Exp συγκρίνοντας τις μεταβολές και των τριών υπό μελέτη ορμονών από την H20 έως την H30, φαίνεται πως τόσο η κλομιφαίνη όσο και η ραλοξιφαίνη, παρουσία οιστρογόνων, ανταγωνίζονται σε άλλοτε άλλο βαθμό τις μεταβολές που προκάλεσαν τα οιστρογόνα. Δηλαδή και οι δύο αυτές ουσίες στις συγκεκριμένες συνθήκες ασκούν αντιοιστρογονική δράση και μάλιστα σε ό,τι αφορά στην έκκριση των γοναδοτροπινών, φαίνεται η δράση της ραλοξιφαίνης να είναι πιο έντονη.

## **B. ΥΠΟΦΥΣΙΑΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΗ GnRH (AUC).**

Στη Ομάδα Β η χορήγηση της οιστραδιόλης προκάλεσε, τόσο κατά τη διάρκεια της Cl-Exp όσο και κατά τη διάρκεια της R-Exp, μείωση των επιπέδων της AUC της LH και της AUC της FSH, κατά τις ημέρες H10 και H20, σε σχέση με την H0. Η μείωση της AUC της LH ήταν στατιστικά σημαντική κατά την H20 σε σχέση με την H0, ενώ η μείωση των επιπέδων της AUC της FSH, αν και είναι σε μεγάλο ποσοστό (10,7-27%), κατά τη στατιστική ανάλυση δεν φτάνει τη σημαντικότητα. Η προσθήκη της κλομιφαίνης δεν είχε κανένα αποτέλεσμα, αν και σταμάτησε την πτωτική τάση της AUC της FSH. Ωστόσο, μετά την προσθήκη της ραλοξιφαίνης τα επίπεδα της AUC τόσο της LH όσο και της FSH αυξήθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό κατά την H30 σε σχέση με την H10 και H0. Φαίνεται πως η κλομιφαίνη και η ραλοξιφαίνη ασκούν αντιοιστρογονική δράση στην έκλυση της LH και της FSH, σαν απάντηση στη χορήγηση GnRH, στις γυναίκες που έχουν λάβει προθεραπεία με οιστρογόνα. Επίσης, φαίνεται από τα

παραπάνω, πως σε ό,τι αφορά στην έκλυση της LH και της FSH, σαν απάντηση στη χορήγηση GnRH, η αντιστρογονική δράση της ραλοξιφαίνης είναι πιο έντονη από αυτήν της κλομιφαίνης.

Είναι γνωστό, πως τα οιστρογόνα παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροπινών. Οι Shibasaki et al. (1986) μελέτησαν, στην ίδια ομάδα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών σε δύο διαφορετικές χρονικές περιόδους την άμεση απάντηση της υπόφυσης στη χορήγηση της GnRH. Τη μία χρονική περίοδο οι γυναίκες δεν έλαβαν καμία φαρμακευτική αγωγή, ενώ την άλλη χρονική περίοδο η GnRH χορηγήθηκε αφού οι γυναίκες είχαν προηγουμένως λάβει οιστραδιόλη για 3-4 εβδομάδες. Διαπίστωσαν πως η απάντηση στη GnRH ήταν μικρότερη στην ομάδα των γυναικών που έλαβε την οιστραδιόλη σε σχέση με την απάντηση στις ίδιες γυναίκες, όταν δεν έλαβαν καμία αγωγή. Στην ίδια διαπίστωση καταλήγουν και οι Yen et al. (1974) κατά τους οποίους η δράση της GnRH στις υπογοναδικές γυναίκες στις οποίες χορηγήθηκε αιθυνυλοιστραδιόλη χαρακτηρίστηκε από μείωση στην έκλυση της LH, ως απάντηση στη GnRH, σε σχέση με αυτές που δεν έλαβαν αιθυνυλοιστραδιόλη.

Τα ευρήματά μας συμφωνούν με τα παραπάνω καθώς επίσης και με αυτά των de Moura et al. (1992), οι οποίοι χορήγησαν οιστραδιόλη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε δύο χρονικές περιόδους των 21 ημερών, ενώ κατά τη δεύτερη περίοδο προσέθεσαν τις τελευταίες 7 ημέρες κλομιφαίνη. Διαπίστωσαν πως κατά την τελευταία ημέρα της κάθε χρονικής περιόδου, η απάντηση της FSH στη GnRH ήταν αυξημένη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στις γυναίκες που λάμβαναν οιστραδιόλη και κλομιφαίνη, σε σχέση με αυτές που λάμβαναν μόνο οιστραδιόλη. Στη δική μας μελέτη η μεταβολή δεν ήταν στατιστικά σημαντική, αλλά η τάση των επιπέδων της AUC της FSH ως απάντηση στη GnRH ήταν ανοδική και ίσως να αναδεικνυόταν σε σημαντική αν το δείγμα μας ήταν μεγαλύτερο. Ωστόσο και από τη σύγκριση των μεταβολών των επιπέδων

της FSH της Ομάδας Β κατά την CI-Exp (Σχήμα 15β) δεν προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, που είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της AUC.

Στην Ομάδα Α κατά τη διάρκεια της R-Exp σε ό,τι αφορά στην AUC της LH και της FSH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH παρατηρήθηκε μία σημαντική αύξηση της AUC της LH κατά τις H10 και H30, σε σχέση με την H0 και σε μικρότερο βαθμό αύξηση της AUC της FSH. Ομοίως, η χορήγηση της κλομιφαίνης, κατά την CI-Exp, φαίνεται να διεγείρει, από την H20 στην H30, την AUC τόσο της LH όσο και της FSH, μεταβολή που στην περίπτωση της τελευταίας είναι στατιστικά σημαντική, αλλά η δράση αυτή εμφανίστηκε με καθυστέρηση σε σχέση με αυτήν της ραλοξιφαίνης.

Αν και ο μηχανισμός δεν είναι γνωστός τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν την υπόθεση πως η διεγερτική δράση της ραλοξιφαίνης και της κλομιφαίνης στην έκλυση των γοναδοτροπινών, ύστερα από τη χορήγηση της GnRH, ασκείται κατά ένα μέρος μέσω μηχανισμών στους οποίους δεν συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων και των Σχημάτων 1 και 2 θεωρήθηκε πως η ραλοξιφαίνη και η κλομιφαίνη όταν χορηγήθηκαν στις μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες της Ομάδας Α κατά την R-Exp και την CI-Exp, αντίστοιχα, δέσμευσαν τους οιστρογονικούς υποδοχείς και για αυτό όταν κατά την H20 άρχισε και η συγχορήγηση της οιστραδιόλης δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στα βασικά επίπεδα των τιμών των γοναδοτροπινών μεταξύ των H20 και H30. Αν λοιπόν οι οιστρογονικοί υποδοχείς είχαν καταληφθεί από την ραλοξιφαίνη ή την κλομιφαίνη θα αναμενόταν η σημαντική αύξηση στην AUC της LH από την H0 στην H10 κατά την R-Exp καθώς και αυτή που η χορήγηση της ραλοξιφαίνης και της κλομιφαίνης προκάλεσαν στην AUC της LH και στην AUC της FSH από την H20-H30, αντίστοιχα, να προκλήθηκε μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων και να ήταν οιστρογονική ή αντιοιστρογονική. Ωστόσο, καμία από τις δράσεις αυτές δεν φαίνεται να ασκήθηκε γιατί αν η δράση τους ήταν οιστρογονική τότε, όπως είδαμε

από τα αποτελέσματα της Ομάδας Β, θα έπρεπε να έχουμε μείωση των επιπέδων της AUC και όχι άνοδο. Ωστόσο, ούτε και αντιστρογονική μπορούσε να ήταν η δράση τους, γιατί όπως φάνηκε από τα μέχρι τώρα αποτελέσματα η ραλοξιφαίνη και η κλομιφαίνη ασκούν αντιστρογονική δράση μόνο όταν είναι παρόντα τα οιστρογόνα, τα οποία στη συγκεκριμένη περίπτωση απουσίαζαν. Είναι λοιπόν πιθανό πως κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες η ραλοξιφαίνη και κλομιφαίνη ευαισθητοποίησαν την υπόφυση στην GnRH μέσω μηχανισμών, στους οποίους δεν συμμετείχαν οι οιστρογονικοί υποδοχείς. Επιπλέον, η διεγερτική δράση της ραλοξιφαίνης ήταν πιο εμφανής στην LH σε σχέση με την FSH, ενώ η δράση της κλομιφαίνης ήταν πιο εμφανής στην FSH σε σχέση με την LH. Ωστόσο, για να εξακριβωθεί η ευαισθησία της FSH και της LH στους φαρμακευτικούς αυτούς παράγοντες, ίσως να απαιτούνται δοσο-ισοδύναμες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών.

Η σημαντική αύξηση της FSH ως απάντηση στη GnRH από την H20 στην H30, όταν κατά τη διάρκεια της CI-Exp προστέθηκε E2 δεν σημαίνει πως το στεροειδές αυτό διέγειρε την έκκριση της FSH, πρώτον γιατί η E2 όταν χορηγήθηκε μόνη της κατέστειλε την απάντηση της FSH στη GnRH και δεύτερον διότι η δράση της θα ήταν δυνατή μέσω των ER, οι οποίοι, όπως φάνηκε προηγουμένως, είχαν καταληφθεί από την CI. Αν η E2 άσκησε τέτοια διεγερτική δράση, αυτή θα ήταν μέσω μηχανισμών στους οποίους δεν συμμετείχαν οι οιστρογονικοί υποδοχείς.

Η φυσιολογική σημασία των ευρημάτων της μελέτης μας δεν είναι προς το παρών ξεκάθαρη. Αν και οι συνθήκες κάτω από τις οποίες μελετήθηκαν οι γυναίκες και των δύο ομάδων απέχουν αρκετά από αυτές της ανθρώπινης φυσιολογίας, χρήσιμα συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν. Πρώτον, η μελέτη μας έδειξε πως εκτός από τη διαφορετική δράση που η ραλοξιφαίνη και η κλομιφαίνη ασκούν σε διαφορετικούς ιστούς-στόχους, όπως το ενδομήτριο, φαίνεται να επηρεάζουν διαφορετικά την έκκριση της LH και της FSH μέσα στο υποθάλαμο-υπόφυσιακό σύστημα. Δεύτερον, υποστηρίζεται η υπόθεση πως η

προκαλούμενη από την GnRH έκκριση των γοναδοτροπινών μπορεί να ρυθμίζεται, εκτός από τον κλασσικό μηχανισμό στον οποίο συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς και από μηχανισμούς στους οποίους δεν συμμετέχουν οι οιστρογονικοί υποδοχείς.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανάλυση των δεδομένων της μελέτης μας μπορούν να εξαχθούν τα παρακάτω συμπεράσματα:

1. Σε αντίθεση με την κλομιφαίνη που στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες συμπεριφέρεται ως οιστρογόνο, σε ό,τι αφορά στη βασική έκκριση των γοναδοτροπινών, η ραλοξιφαίνη δεν φαίνεται να έχει ούτε οιστρογονική ούτε αντιοιστρογονική δράση.
2. Στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, στις οποίες έχει γίνει προθεραπεία με οιστρογόνα, τόσο η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη φαίνεται να έχουν αντιοιστρογονική δράση.
3. Λαμβάνοντας υπόψη τις δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν, η αντιοιστρογονική δράση της ραλοξιφαίνης φαίνεται να είναι ισχυρότερη από αυτήν της κλομιφαίνης. Ωστόσο για να διαπιστωθεί αν η ραλοξιφαίνη ασκεί πιο έντονη αντιοιστρογονική δράση σε σχέση με την κλομιφαίνη απαιτούνται δοσο-ισοδύναμες μελέτες με μεγαλύτερο ίσως αριθμό ασθενών.
4. Η απάντηση της LH στη χορήγηση GnRH (AUC) είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή της FSH στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν ραλοξιφαίνη.



5. Η απάντηση της FSH στη χορήγηση GnRH (AUC) είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή της LH στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν κλομιφαίνη.
6. Η οιστραδιόλη καταστέλλει την απάντηση της υπόφυσης στη GnRH, ενώ τόσο η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη διεγείρουν την έκλυση των γοναδοτροπινών μετά τη χορήγηση GnRH, τόσο παρουσία όσο και απουσία των οιστρογόνων.
7. Η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη πιθανόν να επηρεάζουν την έκλυση των γοναδοτροπινών από τη υπόφυση μέσω μηχανισμών στους οποίους δεν συμμετέχουν οι πυρηνικοί οιστρογονικοί υποδοχείς.
8. Η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη δεν φαίνεται να επηρεάζουν τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της προλακτίνης των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, ενώ στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έχουν λάβει προθεραπεία με οιστρογόνα η δράση της κλομιφαίνης φαίνεται να είναι αντιοιστρογονική.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Η επίδραση της ραλοξιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών ορμονών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών.**

**Εισαγωγή:** Η ραλοξιφαίνη (R) είναι ένας νέος αντιστρογονικός παράγοντας που χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη. Τα δεδομένα από τη δράση της ραλοξιφαίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών είναι λιγοστά. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνήσει τη δράση της ραλοξιφαίνης και της κλομιφαίνης (Cl) στην έκκριση των γοναδοτροπινών στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ώστε να προσδιοριστεί περαιτέρω ο ρόλος των οιστρογονικών μηχανισμών της υποθαλαμο-υποφυσιακής αλληλεπίδρασης.

**Υλικό και μέθοδοι:** Συνολικά μελετήθηκαν 16 υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 56-60 ετών που βρισκόταν στην εμμηνόπαυση από 5-10 χρόνια. Οι γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες (A και B) των 8 γυναικών η καθεμία. Και στις δύο ομάδες οι γυναίκες μελετήθηκαν σε δύο χρονικές περιόδους των 30 ημερών η κάθε μία, με μεσοδιάστημα ενός μήνα μεταξύ των δύο χρονικών περιόδων, κατά το οποίο οι υπό μελέτη γυναίκες δεν έλαβαν καμία αγωγή. Οι δύο χρονικές περίοδοι που οι γυναίκες και των δύο ομάδων (A και B) έλαβαν τις δύο διαφορετικές αγωγές χαρακτηρίστηκαν ως R-Exp ή Cl-Exp, όταν στην αγωγή των γυναικών συμπεριλαμβανόταν η ουσία ραλοξιφαίνη (R) ή κλομιφαίνη (Cl), αντίστοιχα.

Στην ομάδα A, στη μία χρονική περίοδο (R-Exp), χορηγήθηκαν στις γυναίκες 180mg raloxifene (Evista 60mg, Eli Lilly) ημερησίως για 30 ημέρες (ημέρες 1-30), ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε και οιστραδιόλη διαδερμικά με τη μορφή αυτοκόλλητων ετικετών (Estraderm TTS 100mcg, Novartis), μία ετικέτα ανά τριήμερο. Στην άλλη χρονική περίοδο (Cl-Exp) χορηγήθηκαν για 30 ημέρες (ημέρες 1-30) 150mg clomiphene citrate ημερησίως

(clomiphene citrate 50 mg, Anfarm), ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε και πάλι οιστραδιόλη με την ίδια μορφή και στην ίδια δόση, όπως παραπάνω.

Στην ομάδα Β των γυναικών στη μία χρονική περίοδο (R-Exp) χορηγήθηκε για 30 ημέρες (ημέρες 1-30) οιστραδιόλη, με την ίδια μορφή και στην ίδια δόση όπως στην ομάδα Α, ενώ τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε raloxifene, 180mg ημερησίως. Στην άλλη χρονική περίοδο (Cl-Exp), στην ίδια ομάδα, χορηγήθηκε επίσης για 30 ημέρες (ημέρες 1-30) οιστραδιόλη με την ίδια μορφή και δόση όπως παραπάνω, αλλά τις τελευταίες 10 ημέρες (ημέρες 21-30) προστέθηκε clomiphene 150 mg ημερησίως. Η πρώτη αυτοκόλλητη ετικέτα E2 τοποθετήθηκε μετά το τέλος των αιμοληψιών της ημέρας 0 (H0). Η τελευταία δόση R ή Cl χορηγήθηκε το μεσημέρι της ημέρας 30 (H30) και της E2 το πρωί της ημέρας 30.

Και στις δύο χρονικές περιόδους της μελέτης αυτής, στις ομάδες Α και Β χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως κατά τις ημέρες (H) 0, 10, 20 και 30, 100μg GnRH (Relefact LH-RH 0,1mg, Hoechst). Δείγματα αίματος σε σχέση με την χορήγηση της GnRH (χρονική στιγμή 0 min) ελήφθησαν τις χρονικές στιγμές (T) -15, 0, 30, 60, 90 και 120 min.

Από τις 8 γυναίκες της κάθε ομάδας οι 4 ξεκίνησαν πρώτα με την R-Exp και ακολούθησε η περίοδος της Cl-Exp ενώ οι άλλες 4 ξεκίνησαν πρώτα με την περίοδο της Cl-Exp και ακολούθησε η περίοδος της R-Exp. Για τη στατιστική μελέτη των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (ANOVA).

**Αποτελέσματα:** Στην Ομάδα Α, τα βασικά επίπεδα της FSH και της LH (μέση τιμή ± SEM) δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά κατά τη διάρκεια της R-Exp, ενώ μειώθηκαν σημαντικά κατά τη διάρκεια της Cl-Exp από την ημέρα 0 ( $75,6 \pm 10,9$  και  $38,6 \pm 5,5$  mIU/ml αντίστοιχα) στην ημέρα 30 ( $58,9 \pm 10,3$  και  $26,4 \pm 4,3$

mlU/ml αντίστοιχα) ( $P < 0,001$ ). Η προσθήκη της E2 δεν είχε κανένα αποτέλεσμα. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) (μέση τιμή  $\pm$  SEM) της LH ως απάντηση στη χορήγηση της GnRH αυξήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της R-Exp από την ημέρα 0 ( $6921 \pm 824$  mlU/ml/120 min) στην ημέρα 30 ( $8823 \pm 1074$  mlU/ml/120 min) ( $P < 0,05$ ) και αυτή της FSH κατά την CI-Exp από την ημέρα 20 ( $2116 \pm 385$  mlU/ml/120 min) στην ημέρα 30 ( $3231 \pm 492$  mlU/ml/120 min) ( $P < 0,05$ ).

Στην Ομάδα Β τα βασικά επίπεδα της FSH και της LH μειώθηκαν σημαντικά κατά τη διάρκεια χορήγησης της E2 τόσο κατά την R-Exp ( $P < 0,01$ ) όσο και κατά την CI-Exp ( $P < 0,001$ ). Η προσθήκη της CI (για διάστημα 10 ημερών) διέκοψε την πτωτική αυτή τάση ενώ η προσθήκη της R προκάλεσε σημαντική άνοδο των επιπέδων της FSH από την ημέρα 20 ( $47,7 \pm 4,6$  mlU/ml) στην ημέρα 30 ( $57,7 \pm 6,4$  mlU/ml) ( $P < 0,05$ ). Η χορήγηση της E2 μείωσε σημαντικά την AUC της LH τόσο κατά την CI-Exp όσο και κατά την R-Exp ( $P < 0,05$ ) ενώ αυτήν της FSH κατά την R-Exp. Η προσθήκη της CI δεν επηρέασε την AUC ως απάντηση στην GnRH (οι τιμές κατά την ημέρα 0 ήταν χαμηλότερες από αυτές της ημέρας 30) ενώ η προσθήκη της R προκάλεσε σημαντική αύξηση στην AUC τόσο της LH όσο και της FSH (οι τιμές κατά την ημέρα 30,  $7927 \pm 1071$  και  $2445 \pm 402$  mlU/ml/120 min αντίστοιχα, ήταν σημαντικά υψηλότερες από αυτές της ημέρας 0,  $7129 \pm 1124$  και  $1891 \pm 277$  mlU/ml/120 min αντίστοιχα,  $P < 0,05$ ).

#### **Συμπεράσματα:**

- Σε αντίθεση με την κλομιφαίνη που στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες συμπεριφέρεται ως οιστρογόνο, σε ό,τι αφορά στη βασική έκκριση των γοναδοτροπινών, η ραλοξιφαίνη δεν φαίνεται να έχει ούτε οιστρογονική ούτε αντιοιστρογονική δράση.
- Στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, στις οποίες έχει γίνει προθεραπεία με οιστρογόνα, τόσο η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη φαίνεται να έχουν αντιοιστρογονική δράση.

- Λαμβάνοντας υπόψη τις δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν, η αντλιοιστρογονική δράση της ραλοξιφαίνης φαίνεται να είναι ισχυρότερη από αυτήν της κλομιφαίνης. Ωστόσο για να διαπιστωθεί αν η ραλοξιφαίνη ασκεί πιο έντονη αντλιοιστρογονική δράση σε σχέση με την κλομιφαίνη απαιτούνται δοσο-ισοδύναμες μελέτες με μεγαλύτερο ίσως αριθμό ασθενών.
- Η απάντηση της LH στη χορήγηση GnRH (AUC) είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή της FSH στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν ραλοξιφαίνη.
- Η απάντηση της FSH στη χορήγηση GnRH (AUC) είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή της LH στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν κλομιφαίνη.
- Η οιστραδιόλη καταστέλλει την απάντηση της υπόφυσης στη GnRH, ενώ τόσο η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη διεγείρουν την έκλυση των γοναδοτροπινών μετά τη χορήγηση GnRH, τόσο παρουσία όσο και απουσία των οιστρογόνων.
- Η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη πιθανόν να επηρεάζουν την έκλυση των γοναδοτροπινών από τη υπόφυση μέσω μηχανισμών στους οποίους δεν συμμετέχουν οι πυρηνικοί οιστρογονικοί υποδοχείς.
- Η ραλοξιφαίνη όσο και η κλομιφαίνη δεν φαίνεται να επηρεάζουν τα επίπεδα της βασικής έκκρισης της προλακτίνης των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, ενώ στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έχουν λάβει προθεραπεία με οιστρογόνα η δράση της κλομιφαίνης φαίνεται να είναι αντλιοιστρογονική.

## SUMMARY

### **Effects of raloxifene and clomiphene on gonadotrophin secretion in postmenopausal women.**

Raloxifene (R) is a new antioestrogenic compound that is used in clinical practice. Data on the effect of R on gonadotrophin secretion are limited. The purpose of this study was to investigate the effect of R and clomiphene (Cl) on FSH and LH secretion in postmenopausal women in order to obtain more insights into the role of oestrogenic mechanisms in hypothalamic – pituitary interaction.

**Materials and Methods:** The study included 16 healthy postmenopausal volunteer women aged 56-60 years divided into two groups. Each woman participated in two experimental (Exp) procedures a month apart. In Group A, the women (n=8) received, in one experiment (R-Exp), R (180 mg/day per os) for 30 days plus oestradiol (E2) through skin patches (100 µg/24h) from days 21 to 30 and in the other experiment (Cl-Exp), Cl (150 mg/day per os) for 30 days plus E2 as above. In Group B, the women (n=8) received in the R-Exp, E2 for 30 days plus R from days 21 to 30 and in the Cl-Exp, E2 for 30 days plus Cl from days 21 to 30. Daily doses were as in Group A. A GnRH test (100 µg i.v) was performed in all women on days 0, 10, 20 and 30 of each experiment. Blood samples were taken at -15, 0 (GnRH injection), 30, 60, 90, and 120 min. The results were statistically analyzed by analysis of variance (ANOVA).

**Results:** In Group A, basal levels of FSH and LH (mean ± SEM) did not change significantly during the R-Exp, while they decreased significantly in the Cl-Exp from days 0 (75.6 ± 10.9 and 38.6 ± 5.5 mIU/ml respectively) to 30 (58.9 ± 10.3 and 26.4 ± 4.3 mIU/ml respectively) (P<0.001). The addition of E2 did not have any effect. However, the area under the curve (AUC) (mean ± SEM) of LH

response to GnRH increased significantly in the R-Exp from days 0 ( $6921 \pm 824$  mIU/ml/120 min) to 30 ( $8823 \pm 1074$  mIU/ml/120 min) ( $P < 0.05$ ) and that of FSH in the CI-Exp from days 20 ( $2116 \pm 385$  mIU/ml/120 min) to 30 ( $3231 \pm 492$  mIU/ml/120 min) ( $P < 0.05$ ). In Group 2, basal levels of FSH and LH declined significantly during treatment with E2 in both the R-Exp ( $P < 0.01$ ) and the CI-Exp ( $P < 0.001$ ). However, the addition of CI (for 10 days) interrupted this decrease, while the addition of R stimulated FSH levels significantly from days 20 ( $47.7 \pm 4.6$  mIU/ml) to 30 ( $57.7 \pm 6.4$  mIU/ml) ( $P < 0.05$ ). E2 suppressed significantly the AUC of LH in both experiments ( $P < 0.05$ ), and that of FSH in R-Exp. The addition of CI did not affect the AUC in response to GnRH (values on day 30 were lower than on day 0), while the addition of R increased the AUC of both LH and FSH (values on day 30,  $7927 \pm 1071$  and  $2445 \pm 402$  mIU/ml/120 min respectively, were significantly higher than on day 0,  $7129 \pm 1124$  and  $1891 \pm 277$  mIU/ml/120 min respectively,  $P < 0.05$ ).

### Conclusions:

- These results demonstrate that in contrast to CI, R does not exert any oestrogenic effects on basal gonadotrophin secretion in oestrogen deprived postmenopausal women.
- Antiestrogenic action of R and CI is evident only after pretreatment with E2. However, R seems to be a more potent antiestrogen than CI.
- E2 suppressed pituitary responsiveness to GnRH while R and CI exerted a stimulating effect both in the absence and the presence of E2.
- It is suggested that R and CI and/or E2 can affect pituitary gonadotrophin secretion through non estrogen receptor pathways.
- R and CI do not exert any effects on basal prolactin secretion in oestrogen deprived postmenopausal women, while in oestrogen pretreated postmenopausal women CI seems to act as an antioestrogen.



## REFERENCES

1. Adashi E.Y. (1984) Clomiphene citrate: mechanism(s) and site(s) of action-a hypothesis revisited. *Fertil Steril*, 42, 331-343.
2. Baker V.L., Draper M., Paul S., Allerheiligen S., Glant M., Shifren J., Jaffe R.B. (1998) Reproductive Endocrine and Endometrial Effects of Raloxifene HCL, a Selective Estrogen Receptor Modulator, in Women With Regular Menstrual Cycles. *J Clin Endocr Metab*, 83, 6-13.
3. Baker V.L., Jaffe R.B. (1995) Clinical uses of antiestrogens. *Obstet Gynecol Surv*, 51, 45-59.
4. Barrett-Connor E. (2001) Raloxifene: Risks and Benefits. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 949,295-303.
5. Barrett-Connor E., Cox D.A., Anderson P.W. (1999) The Potential of SERMs for Reducing the Risk of Coronary Heart Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 10, 320-325.
6. Barrett-Connor E., Graady D., Sashegyi A., Anderson P.W., Cox D.A., Hozowski K., Rautahatju P., Harper K.D. (2002) Raloxifene and Cardiovascular Events in Osteoporotic Postmenopausal Women. *JAMA*, 287, 847-857.
7. Beresford S.A., Weiss N.S., Voigt L.F., McKnight B., (1997) Risk of endometrial cancer in relation to use of estrogen combined with cyclic progestagen therapy in postmenopausal women. *The Lancet*, 349,458-461.



8. Blum M., Zacharovitch D., Pery J., Gilerowitch M. (1989) Estrogen replacement therapy (ERT) by a special regimen in the years following menopause. *Clin Exp Obstet Gyn*, XVI, 9-11.
9. Brzozowski A.M., Pike A.C.W., Dauter Z., Hubbard R.E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Greene L., Gustafsson J-A., Carlquist M. (1997) Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, 389, 753-757.
10. Buelke-Sam J., Cohen I.R., Wiedra D., Griffey K.I., Fisher L.F., Francis P.C. (1998) The selective estrogen receptor modulator, raloxifene: a segment II/III delivery study in rats. *Reproductive Toxicology*, 12, 271-288.
11. Cano A., Hermenegildo C. (2000) The endometrial effects of SERMs. *Hum Reprod Update*, 6, 244-254.
12. Chaidarum S.S., Swearingen B., Alexander J.M. (1998) Differential expression of estrogen receptor-beta (ER-beta) in human pituitary tumors: functional interaction with ER alpha and a tumor-specific splice variant. *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 3308-3315.
13. Clark J.H., Markaverich B.M. (1982) The agonistic-antagonistic properties of clomiphene: a review. *Pharmac Ther*, 15,467-519.
14. Clemens J.A., Bennett D.R., Black L.J., Jones C.D. (1983) Effects of a new antiestrogen, keoxifene (LY 156758), on growth of carcinogen-induced mammary tumors and on LH and prolactin levels. *Life Sciences*, 32, 2869-2875.
15. Cohen F.J., Watts S., Shah A., Akers R., Plouffe L. (2000) Uterine Effects of 3-Year Raloxifene Therapy in Postmenopausal Women Younger Than Age 60. *Obstet Gynecol*, 95,104-110.
16. Cohen I., Rosen D.J.D., Shapira J., Cordoba M., Gilboa S., Altaras M.M., Yigael D., Beyth Y. (1993) Endometrial changes in postmenopausal women treated with tamoxifen for breast cancer. *Br J Obstet Gynaecol*, 100, 567-570.

17. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (1997) Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer
18. Constantino J.P., Kuller L.H., Ives D.G., Fisher B., Dignam J. (1997) Coronary heart disease mortality and adjuvant tamoxifen therapy. *J Natl Cancer Inst*, 89, 776-782.
19. Cosman F., Lindsay R. (1999) Selective Estrogen Receptor Modulators: Clinical Spectrum. *Endocrin Reviews*, 20, 418-434.
20. Cummings S.R., Duong T., Kenyon E., Cauley J., Whitehead M., Krueger K.A. (2002) Serum Estradiol Level and Risk of Breast Cancer During Treatment With Raloxifene. *JAMA*, 287, 216-220.
21. Czygan P.J., Schultz K.D. (1972) Studies of the Anti-Oestrogenic and Oestrogen-Like Action of Clomiphene Citrate in Women. *Gynec. Invest.* 3, 126-134.
22. Daly E., Vessey M.P., Hawkins M.M., Carson J.L., Parimala G., Marsh S. (1996) Risk of venous thromboembolism in users of hormone replacement therapy. *The Lancet*, 348, 977-980.
23. de Moura M.D., Ferriani R.A., de Sa M.F. (1992) Effects of clomiphene citrate on pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release in women before and after treatment with ethinyl estradiol. *Fertil Steril*, 58, 504-507.
24. Delmas P.D., Bjarnason N.H., Mitlak B.H., Ravoux A-C., Shah A.S., Huster W.J., Draper M., Christiansen C. (1997) Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometriun in postmenopausal women. *N Eng J Med*, 337, 1641-1647.
25. Diez J.L. (2000) Skeletal effects of selective oestrogen receptor modulators (SERMs). *Hum Reprod Update*, 6, 255-8.
26. Draper M.W., Flowers D.E., Neild J.A., Huster W.J., Zerbe R.L. (1995) Antiestrogenic properties of raloxifene. *Pharmacology*, 50,209-217.

27. Dutertre M., Smith C.L. (2000) Molecular mechanisms of Selective Estrogen Receptor Modulator (SERM) Action. *Pharmacology*, 295, 431-437.
28. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. (1998) Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomized trials. *Lancet*, 351, 1451-1467.
29. Ehara Y., Siler T.M., Yen S.S. (1976) Effects of large doses of estrogen on prolactin and growth hormone release. *Am J Obstet Gynecol*, 125, 455-458.
30. Fisher B., Constantino J.P., Redmond C.K., Fisher E.R., Wickerman D.L., Cronin W.M. (1994) Endometrial cancer in tamoxifen-treated breast cancer patients: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14. *J Natl Cancer Inst*, 86, 527-537.
31. Fisher B., Constantino J.P., Redmond C.K., Fisher E.R., Wickerman D.L., Redmond C.K., Kavanah M., Cronin W.M., Vogel V., Robidoux A., and others NSABP investigators. (1998) Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst*, 90, 1371-1388.
32. Fitzpatrick S.L., Berrodin T.J., Jenkins S.F., Sindoni D.M., Deecher D.C., Frail D.E. (1999) *Endocrinology*, 140, 3928-3937.
33. Francis P.C. (1997) An oncogenic study and companion blood level study in Fisher 344 rats administered raloxifene hydrochloride in the diet for 2 years. Toxicology Report No 60. Lilly Research Laboratory.
34. Friend K.E., Chiou Y-K., Lopes M.B.S., Laws E.R., Hughes K.M., Shupnik M.A. (1994) Estrogen receptor expression in human pituitary: correlation with immunohistochemistry in normal tissue and immunohistochemistry and morphology in macroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab*, 78, 1497-1504.
35. Fujimoto N., Katzellenbogen B.S. (1994) Alteration in the Agonist/Antagonist Balance of Antiestrogens by Activation of Protein

- Kinase A Signaling Pathways in Breast Cancer Cells: Antiestrogen Selectivity and Promoter Dependence. *Mol Endocrinol*, 8, 296-304.
36. Glass C.K., Rosenfeld M.G. (2000) The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes and Development*, 14, 121-141.
  37. Godsland I.F. (2001) Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on lipid, lipoprotein, and apolipoprotein (a) concentrations: analysis of studies published from 1974-2000. *Fertil Steril*, 75, 898-915.
  38. Goldstein S.R., Neven P., Zhou L., Taylor Y.L., Ciaccia A.V., Plouffe L.Jr. (2001) Raloxifene effect on frequency of surgery for pelvic floor relaxation. *Obstet Gynecol*, 2001, 98, 91-96.
  39. Grey A.B., Stapleton J.P., Evans M.C., Tatnell M.A., Ames R.W., Reid I.R. (1995) The effect of the antiestrogen tamoxifen on bone mineral density in normal late postmenopausal women. *Am J Med*, 99, 636-641.
  40. Gustafsson J-A. (1999) Estrogen receptor  $\beta$ - anew dimension in estrogen mechanism of action. (Review). *Journal of Endocrinology*, 163,379-383.
  41. Hadley M.E. *Endocrinology*, 5<sup>th</sup> edition, Prentice Hall.
  42. Hall J.M., McDonnell D.P. (1999) The Estrogen Receptor  $\beta$ -Isoform (ER $\beta$ ) of the Human Estrogen Receptor Modulates ER $\alpha$  Transcriptional Activity and Is a Key Regulator of the Cellular Response to Estrogens and Antiestrogens. *Endocrinology*, 140, 5566-5578.
  43. Hashimoto T., Miyai K., Izumi K., Kumahara Y. (1976) Effect of Clomiphene Citrate on Basal and LRH-Induced Gonadotropin Secretion in Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 42, 539-540.
  44. Hashimoto T., Miyai K., Izumi K., Onishi T., Kumahara Y. (1976) Dual Effect of Clomiphene Citrate on Pituitary Gonadotropin Secretion in Postmenopausal Women. *Endocrinol Japon*, 23,115-118.
  45. Hayes D.F., Van Zyl J.A., Hacking A., Goedhals L., Bezwoda W.R., Mailliard J.A. et al. (1995) Randomized comparison of tamoxifen and two separate doses of toremifene in postmenopausal patients with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, 13, 1556-2566.

46. Heaney R.P., Draper M.W. (1997) Raloxifene and estrogen: Comparative bone-remodeling kinetics. *J Clin Endocrinol Metab*, 82, 3425-3429.
47. Hubert J-F., Vincent A., Labrie F. (1986) Estrogenic activity of phenol red in rat anterior pituitary cells in culture. *Biochem Bioph Res Communic*, 141, 885-891.
48. Hulley S., Grady D., Bush T., Furberg C., Herrington D., Riggs B., Vittinghoff E. (1998) Randomized Trial of Estrogen Plus Progestin for Secondary Prevention of Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. *JAMA*, 280, 605-613.
49. Jaffe R.B., Keye W.R. (1974) Estradiol augmentation of pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 39,850.
50. Jonhson Jr C.C., Bjarnason N.H., Cohen F.J., Shah A., Lindsay R., Mitlak B.H., Huster W., Draper M.W., Harper K.D., Heath III H., Gennari C., Christiansen C., Arnaud C.D., Delmas P.D. (2000) Long Term Effects of Raloxifene on Bone Mineral Density, Bone Turnover, and Serum Lipid Levels in Early Postmenopausal Women. *Arch Intern Med*, 160, 3444-3450.
51. Jordan V.C., Fritz N.F., Langan-Fahey S., Thompson M., Torney D.C. (1991) Alteration of endocrine parameters in postmenopausal women with breast cancer during long term adjuvant therapy with tamoxifen as the single agent. *J Natl Cancer Inst*, 83, 1488-1491.
52. Jordan V.C., Gapstur S., Morrow M. (2001) Selective Estrogen Receptor Modulation and Regulation in Risk of Breast Cancer, Osteoporosis, and Coronary Heart Disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 93, 1449-1457.
53. Katzenellenbogen B.S., Korach K.S. (1997) Editorial: A New Actor in the Estrogen Receptor Drama-Enter ER- $\beta$ . *Endocrinology*, 138(3), 861-862.
54. Katzenellenbogen J.A., O' Malley B.W., Katzenellenbogen B.S. (1996) Tripartite Steroid Hormone Pharmacology: Interaction with Multiple

Effector Sites as a Basis for the Cell- and Promoter-Specific Action of These Hormones. *Mol. Endocrinol.*, 10,119-131.

55. Kauppila A., Janne O., Kivinen S., Kokko E., Tuimala R., Vihko R. (1981) Postmenopausal hormone replacement therapy with estrogen periodically supplemented with antiestrogen. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 140,787-792.
56. Kedar R.P., Bourne T.H., Powles T. J., Collins W.P., Ashley S.E., Cosgrove D.O., Campbell S. (1994) Effects of tamoxifen on uterus and ovaries of postmenopausal women in a randomized breast cancer prevention trial. *Lancet*, 343, 1318-1321.
57. Kleinberg D.L., Todd J., Babitsky G. (1983) Inhibition by estradiol of the lactogenic effect of prolactin in primate mammary tissue: Reversal by antiestrogens LY 156758 and tamoxifen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 80, 4144-4148.
58. Kokko E., Janne O., Kauppila A., Vihko R. (1981) Cyclic Clomiphene Citrate Treatment Lowers Cytosol Estrogen and Progesterone Receptor Concentrations in the Endometrium of Postmenopausal Women on Estrogen Replacement Therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 52, 345-349.
59. Kostoglou-Athanassiou I., Ntalles K., Gogas J., Markopoulos C., Alevizatos-Terzaki V., Athanassiou P., Georgiou E., Proukakis C. (1997) Sex hormones in postmenopausal women with breast cancer treated with tamoxifen. *Horm Res*, 47, 116-120.
60. Kuiper G.G.J.M., Lemmen J.G., Carlsson B., Corton J.C., Safe S.H., van der Saag P.T., van der Burg B., Gustafsson J-A. (1998) Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor  $\beta$ . *Endocrinology*, 139, 4252-4263.
61. Lachelin G.C., Yen S.S. (1978) Biphasic change in pituitary capacity induced by estrogen in hypogonadal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 46, 369-373.
62. Lasco A., Cannavo S., Gaudio A., Morabito N., Basile G., Nicita-Mauro V., Frisina N. (2002) Effects of long term raloxifene treatment on serum



- prolactin and gonadotropin levels in postmenopausal women. *Eur J Endocrinol*, 147, 461-465.
63. Levy A., Lightman S. Endocrinology, Oxford Core Texts.
64. Lindholm J., Korsgaard O., Rasmussen P., Micic S. (1976) LH and FSH and the response to LHRH in relation to sex and age. *Eur J Clin Invest*, 6, 249-254.
65. Long G.G., Cohen I.R., Gries C.L., Young J.K., Francis P.C., Capen C.C. (2001) Proliferative lesions of ovarian granulosa cells and reversible hormonal changes induced in rats by a selective estrogen receptor modulator. *Toxicol Pathol*, 29, 403-410.
66. Lonning P.E., Johannessen D.C., Lien E.A., Ekse D., Fotsis T., Adlercreutz H. (1995) Influence of tamoxifen on sex hormones, gonadotrophins and sex hormone binding globulin in postmenopausal breast cancer patients. *J Steroid Molec Biol*, 52, 491-496.
67. Malacara J.M., Fajardo M.E., Nava L.E. (2001) Gonadotropins at menopause: the influence of obesity, insulin resistance, and estrogens. *Steroids*, 66, 559-567.
68. Martin P.M., Bererthois Y., Jensen E.V. (1998) Binding of antiestrogens exposes an occult antigenic determinant in the human estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85, 2533-2537.
69. Marut E.L., Hodgen G.D. (1982) Antiestrogenic action of high-dose clomiphene in primates: pituitary augmentation but with ovarian attenuation. *Fertil Steril*, 38, 100-104.
70. Mayeux R. (2001) Can estrogen or selective estrogen receptor modulators preserve cognitive function in elderly women? *N Eng J Med*, 344, 1242-1244 (Editorial).
71. McDonald C.C., Alexander F.E., Whyte B.W., Forrest A.P., Stewart H.J. (1995) Cardiac and vascular morbidity in women receiving adjuvant tamoxifen for breast cancer in a randomized trial. The Scottish Cancer Trials Breast Group. *Br Med J*, 311, 977-980.

72. McDonnell D.P., Clemm D.L., Hermann T., Goldman M.E., Pike J.W. (1995) Analysis of Estrogen Receptor Function in Vitro Reveals Three Distinct Classes of Antiestrogens. *Mol. Endocrinol.*, 9, 659-669.
73. McKenna N.J., Lanz R.B., O'Malley B.W. (1999) Nuclear receptor coregulators: Cellular and molecular biology. *Endocr Rev*, 20, 321-344.
74. Messinis I.E., Nillius S.J. (1982) Comparison between tamoxifen and clomiphene for induction of ovulation. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 61, 377-379.
75. Messinis I.E., Templeton A. (1988) Blockage of the positive feedback effect of oestradiol during prolonged administration of clomiphene citrate to normal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 29, 509-516.
76. Messinis I.E., Templeton A. (1988) Changes in serum prolactin levels during the follicular phase and the endogenous luteinizing hormone surge of cycles hypestimulated with follicle stimulating hormone. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1988, 28, 243-251.
77. Messinis I.E., Templeton A.A. (1990) Anti-oestrogenic effect of clomiphene citrate in oestrogen-treated, hypogonadal women. *Hum Reprod*, 5, 150-152.
78. Meunier P.J., Vignot E., Garnero P., Confavreux E., Paris E., Liu-Leage S., Sarkar S., Liu T., Wong M., Draper M.W. (1999) Treatment of Postmenopausal Women with Osteoporosis or Low Bone Density with Raloxifene. *Osteoporos Int*, 10, 330-336.
79. Mijatovic V., van der Mooren M.J., Kenemans P., de Valk-de Roo G.W., Netelenbos C. (1999) Raloxifene Lowers Serum Lipoprotein (A) in Healthy Postmenopausal Women: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Comparison with Conjugated equine Estrogens. *Menopause*, 6, 134-137.
80. Milner T.A., McEwen B.S., Hayashi S., Li C.J., Reagan L.P., Alves S.E. (2001) Ultrastructural evidence that hippocampal alpha estrogen receptors are located at extranuclear sites. *J Comp Neurol*, 15; 429, 355-371.



81. Miodrag A., Ekelund P., Burton R., Castleden CM. (1991) Tamoxifen and partial oestrogen agonism in postmenopausal women. *Age Aging*, 20, 52-54.
82. Mitchner N.A., Garlick C., Ben-Jonathan N. (1998) Cellular distribution and gene regulation of estrogen receptors alpha and beta in the rat pituitary gland. *Endocrinology*, 139, 3976-3983.
83. Miyake A., Tasaka K., Sakumoto T., Kawamura Y., Nagahara Y., Aono T. (1983) Clomiphene citrates induces luteinizing hormone release through hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone in vitro. *Acta Endocrinologica (Copenh)*, 103, 289-292.
84. Neven P., DeMulder X., van Belle Y., Campo R., Vanderick G. (1994) Tamoxifen and the uterus. *Br Med J*, 309, 1313-1314.
85. Nickelsen T., Lufkin E.G., Riggs B.L., Cox D.A., Crook T.H. (1999) Raloxifene hydrochloride, a selective estrogen receptor modulator: safety assessment of effects on cognitive function and mood in postmenopausal women. *Psychoneuroendocrinology* 24, 115-128.
86. Ortmann O., Emons G., Knuppen R., Catt K. (1988) Inhibitory Action of Keoxifene on Luteinizing Hormone Secretion in Pituitary Gonadotrophs. *Endocrinology*, 123,962-968.
87. Paganini-Hill A., Clark L.J. (2000) Preliminary assessment of cognitive function in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Breast Cancer Research and Treatment*, 64, 165-176.
88. Paige L.A., Christensen D.J., Gron H., Norris J.D., Gottlin E.B., Padilla K.M., Chang C., Ballas L.M., Hamilton P.T., McDonnell D.P., Fowlkes D.M. (1999) Estrogen Receptor (ER) modulators each induce distinct conformational changes in ER $\alpha$  and ER $\beta$ . *Proc Natl Aca Sci USA.*, 96, 3999-4004.
89. Palomba S., Sammartino A., Di Carlo C., Affinito P., Zullo F., Nappi C. (2001) Effects of raloxifene on uterine leiomyomas in postmenopausal women. *Fertil Steril*, 76, 38-43.

90. Petterson K., Grandien K., Kuiper G.G., Gustafsson J.A. (1997) Mouse estrogen receptor beta forms estrogen response element binding heterodimers with estrogen receptor alpha. *Mol Endocrinol*, 11, 1486-1496.
91. Pike A.C.W., Brzozowski A.M., Hubbard R.E., Bonn T., Thorsell A-G., Engstrom O., Ljunggren J., Gustaffson J-A., Carlquist M. (1999) Structure of the ligand-binding domain of the estrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and a full antagonist., *The EMBO Journal*, 18, 4608-4618.
92. Pinnila L., Gonzalez L.C., Gaytan F., Tena-Sempere M., Aguilar E. (2001) Oestrogenic effects of neonatal administration of raloxifene on hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male and female rats. *Reproduction*, 121,915-924.
93. Pinnila L., Gonzalez L.C., Tena-Sempere M., Aguilar E. Evidence of an estrogen-like action of raloxifene upon the hypothalamic-pituitary unit: raloxifene inhibits luteinizing hormone secretion and stimulates prolactin secretion in ovariectomized female rats. (2001) *Neuroscience Letters*, 311, 149-152.
94. Plouffe L. Jr., Siddhanti S. (2001) The effect of Selective Estrogen Receptor Modulators on Parameters of the hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis. *Ann N.Y. Acad Sci*, 949, 251-258.
95. Powles T., Eeles R., Ashley S., Easton D., Chang J., Dowsett M., Tidy A., Viggers J., Davey J. (1998) Interim analysis of the incidence of breast cancer in the Royal Marsden Hospital tamoxifen randomized chemoprevention trial. *Lancet*, 352, 98-101.
96. Product Circular 1997 Evista (raloxifene hydrochloride). Eli Lilly and Company Indianapolis, IN.
97. Progress in Obstetrics and Gynaecology 13, Churchill Livingstone.
98. Ravid R., Jedwab E., Persitz M., David P., Karni N., Gil S., Cordova T., Harell A., Ayalon D. (1977) Gonadotrophin release in ovariectomised patients. *Clinical Endocrinology*, 6, 333-338.

99. Ravnkar V.A. (1992) Compliance with Hormone Replacement Therapy: Are Women Receiving the Full Impact of Hormone Replacement Therapy Preventive Health Benefits? *WHI*, 2, 75-82.
100. Reindollar R., Koltun W., Parsons A., Rosen A., Siddhanti S., Plouffe L. (2002) Effects of oral raloxifene on serum estradiol levels and other markers of estrogenicity. *Fertil Steril*, 78, 469-472.
101. Riggs B.L. (2000) The mechanism of estrogen regulation of bone resorption. *J Clin Invest*, 106, 1203-1204.
102. Rossing M.A., Daling J.R., Weiss N.S., Moore D.E., Self S.G. (1994) Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med*, 331, 771-776.
103. Rossmann W.G., Reichelt C., Scherbaum W.A. (1994) Neuroendocrinology of Aging in Humans: Attenuated Sensitivity to Sex Steroid Feedback in Elderly Postmenopausal Women. *Neuroendocrinology*, 59, 355-362.
104. Sadoski Y., Adler S. (1998) Selective modulation of estrogen receptor action. (Editorial) *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 3-5.
105. Schneider L.S., Finch C.E. (1997) Can Estrogen Prevent Neurodegeneration? *Drugs & Aging*, 11, 87-95.
106. Shiao A.K., Barstad D., Loria P.M., Cheng L., Kushner P.J., Agard D.A., Greene G. (1998) The Structural Basis of Estrogen Receptor/Coactivator Recognition and the Antagonism of This Interaction by Tamoxifen. *Cell*, 95, 927-937.
107. Shibasaki H.I., de Sa M.F.S. (1986) Effects of estradiol on the pituitary response to intravenous stimulation with LHRH in menopausal women. *Fertil Steril*, 46, 385-391.
108. Shughrue P.J., Lane M.V., Merchenthaler I. (1997) Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 388, 507-525.

109. Shughrue P.J., Lane M.V., Merchenthaler I. (1997) Comparative distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  mRNA in the rat central nervous system. *The Journal of Comparative Neurology*, 388, 507-525.
110. Shupnik M.A. (2002) Estrogen receptors, receptor variants and estrogen actions in the hypothalamic-pituitary axis. *J Neuroendocrinol*, 14, 85-94.
111. Shupnik M.A., Pitt L.K., Soh A.Y., Anderson A., Lopes M.B., Edward R., Laws J. (1998) Selective expression of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  isoforms in human pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 3965-3972.
112. Shushan A., Peretz T., Uziely B., Lewin A., Mor-Yosef S. (1996) Ovarian cysts in premenopausal and postmenopausal-treated women with breast cancer. *Am J Obstet Gynecol.*, 174, 141-144.
113. Simard J., Labrie F. (1985) Keoxifene shows pure antiestrogenic activity in pituitary gonadotrophs. *Moll Cell Endoc*, 39, 141-144.
114. Simoncini T., Genazzani A.R. (2000) Raloxifene Acutely Stimulates Nitric Oxide Release from Human Endothelial Cells Via an Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *J Clin Endocrinol Metab*, 85, 2966-2969.
115. Smith C.L.(1998) Cross-talk between peptide growth factor and estrogen receptor signaling pathways. *Biol Reprod*, 58, 627-632.
116. Spritzer P.M., Ribiero M.F., Oliveira M.C., Barbosa-Coutinho L.M., Dahlem N., Cericatto R., Pavanato M.A. (1996) Effects of tamoxifene on serum prolactin levels, pituitary immunoreactive prolactin cells and uterine growth in estradiol treated ovariectomised rats. *Horm Metab Res* 28, 171-176.
117. Strickler R., Stovall D.W., Merritt D., Shen W., Wong M., Silfen S.L. (2000) Raloxifene nad Estrogen Effects on Quality of Life in Health Postmenopausal Women: A Placebo-Controlled Randomized Trial. *Obstet Gynecol*, 96, 359-365.

118. Tang M-X., Jacobs D., Stern Y., Marder K., Schofield P., Gurland B., Andrews H., Mayeux R. (1996) Effects of estrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet*, 348, 429-432.
119. Taubert H-D., Dericks-Tan J.S.E. (1976) High doses of estrogens do not interfere with the ovulation-inducing effect of clomiphene citrate. *Fertil Steril*, 27, 375-382.
120. Tesarik J., Mendosa C. (1995) Nongenomic effects of 17 beta-estradiol on maturing human oocytes: relationship to oocyte developmental potential. *J Clin Endocrinol Metab*, 80, 1438-1443.
121. The Surgical Clinics of North America, "Breast Cancer Management". October 1999, 79,5.
122. Toran-Allerand C.D., Miranda R.C., Bentham W.D. et al. (1992) Estrogen receptors colocalize with low affinity nerve growth factor receptors in cholinergic neurons of the basal forebrain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 4668-4672.
123. Tsai M-J., O'Malley B.W. (1994) Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Annu Rev Biochem*, 63, 451-486.
124. Udoff L., Langenberg P., Adashi E.Y. (1995) Combined continuous hormone replacement therapy. (Review) *Obstet Gynecol*, 86, 306-316.
125. Vaitukaitis J.L., Bermudez J.A., Cargille C.M., Lipsett M.B., Ross G.T. (1970) New Evidence of an Anti-estrogenic Action of Clomiphene Citrate in Women. *J Clin Endocr Metabol*, 32, 503-508.
126. Valavaara R., Pyrhonen S., Heikkinen M., Rissanen P., Blanco G., Tholix E., Nordman E., Taskinen P, Holsti L., Hajba A. (1988) Toremifene, a new antiestrogenic compound, for treatment of advanced breast cancer. Phase II study. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 24, 785-790.
127. Veronesi U., Maisonneuve P., Sacchini V., Maltoni C., Robertson C., Rotmensz N., Boyle P. (1998) Prevention of breast cancer with tamoxifen: preliminary findings from the Italian randomised trial among hysterectomised women. *Lancet*, 352, 93-97.

128. Walsh B.V., Kuller L.H., Wild R.A., Paul S., Farmer M., Lawrence J.B., Shah A.S., Anderson P.W. (1998) Effects of Raloxifene on Serum Lipids and Coagulation Factors in Healthy Postmenopausal Women. *JAMA*, 279, 1445-1451.
129. Whittemore A.S., Harris R., Itnyre J. (1992) Characteristics relating to ovarian cancer risk: Collaborative analysis of 12 US case control studies. II Invasive epithelial ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol*, 136, 1184-1203.
130. Wijayaratne A.L., Nagel S.C., Paige L.A., Christensen D.J., Norris J.D., Fowlkes D.M., McDonnell D.P. (1999) Comparative Analyses of Mechanistic Differences Among Antiestrogens. *Endocrinology*, 140, 5828-40.
131. Yaffe C., Krueger K., Sarkar S., Grady D., Barrett-Connor E., Cox D.A., Nickelsen T. (2001) Cognitive function in postmenopausal women treated with raloxifene. *N Eng J Med*, 344, 1207-1213.
132. Yaffe K., Sawaya G., Lieberburg I., Grady D. (1998) Estrogen Therapy in Postmenopausal Women. Effects on cognitive function and dementia. *JAMA*, 279, 688-695.
133. Yen S.S., Siler T.M. (1974) Augmentation of prolactin secretion by estrogen in hypogonadal women. *J Clin Invest*, 53, 652-655.
134. Yen S.S.C., Vandenberg G., Siler T.M. (1974) Modulation of pituitary responsiveness to LRF by estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*, 39, 170-177.
135. Young R.L., Goldzieher J.W., Elkind-Hirsch K., Hickox P.G. and Chakraborty P. K. (1991) A Short Term Comparison of the Effects of Clomiphene Citrate and Conjugated Equine Estrogen in Menopausal/Castrate Women. *Int. J. Fertil.*, 36, 167-171.