

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Rekreációs testmozgás cardioprotectiv hatásának vizsgálata ösztrogén-hiányos állatmodelleken

Dr. Karácsonyi Zoltán

Témavezetők: Dr. Pósa Anikó, Dr. Juhász Béla



**DEBRECENI
EGYETEM**

DEBRECENI EGYETEM

LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2023

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	5
Bevezetés.....	8
Irodalmi áttekintés.....	9
A menopausa.....	9
A menopausa klinikai tünetei.....	10
Az ösztrogének hatásai.....	14
A menopausa szövődményei.....	16
A menopausa szövődményeinek profilaxisa és kezelése.....	18
A cardiovascularis szövődmények profilaxisa és kezelése.....	18
Nem farmakológiai kezelés.....	18
Farmakológiai kezelés.....	19
Az osteoporosis profilaxisa és kezelése.....	19
Nem farmakológiai kezelés.....	19
Farmakológiai kezelés.....	20
Cardiovascularis betegségek menopausában és postmenopausában.....	22
A testmozgás szerepe a cardiovascularis megbetegedések megelőzésében és kezelésében	25
Célkitűzések.....	32
Anyagok és módszerek.....	34
Etikai engedélyek.....	34
A testmozgás szívizomra gyakorolt hatásainak vizsgálata ovariectomia indukálta patkány modellen.....	34
Kísérleti állatok.....	34
Sebészeti beavatkozás.....	34
Vizsgálati protokoll.....	34
MMP-2 aktivitás.....	36
Össz-glutation (GSH+GSSG) szint.....	36

Cardiomyocyták 3-nitritirozin (3-NT), szöveti (endogén) inhibitor 2 (TIMP-2) és I. típusú kollagén koncentrációjának meghatározása	37
Ischaemia/reperfúziós vizsgálat protokollja	37
A myocardialis infarctus okozta necroticus terület kiterjedésének meghatározása	38
Statisztikai módszerek.....	38
A testmozgás utókezelésként való alkalmazásának hatása farmakológiailag indukált menopausában patkány modellen.....	39
Kísérleti állatok	39
Vizsgálati protokoll	39
A myocardialis infarctus laboratóriumi paramétereinek meghatározása	41
LDH és myoglobin koncentráció meghatározása.....	41
GOT (glutamát-oxálacetát aszpartát aminotranszferáz), GPT (glutamát-piruvát alanin-aminotranszferáz) és az ALP (alkalikus foszfátáz) koncentráció meghatározása.....	42
A cardiomyociták antioxidáns státusának felmérése.....	42
HO-1 aktivitás	42
HO-1 koncentráció	42
Össz-glutation koncentráció	43
Myocardialis GSH és TNF- α szint	43
Mieloperoxidáz (MPO) aktivitás.....	44
Összfehérje szint meghatározása.....	44
Statisztikai módszerek.....	44
Eredmények.....	45
A testmozgás szívizomra gyakorolt hatásainak vizsgálata ovariectomia indukálta patkány modellen.....	45
Az ösztrogén hiány, a diéta és a testmozgás hatása a cardialis MMP-2 aktivitásra.....	45
A 3-NT (3-nitrotirozin) szint változásai.....	46
A GSH szint változásai	46
A TIMP-2 szint változásai.....	47

Az I-es típusú kollagén szint változásai	48
A myocardialis infarctus okozta necroticus terület változásai	48
A testmozgás utókezelésként való alkalmazásának hatása farmakológiailag indukált menopausában patkány modellen.....	50
A serum östradiol szint változása	50
Az ISO kezelés hatása a myocardialis infarctus markereire	50
A HO-1 koncentráció és aktivitás változása	51
A GSH+GSSG, illetve GSH koncentráció változásai	52
A cardialis TNF- α koncentráció változásai	54
A cardialis MPO aktivitás változásai	54
Megbeszélés	56
A testmozgás szívizomra gyakorolt hatásainak vizsgálata ovariectomia indukálta patkány modellen.....	56
A testmozgás postconditionálásként való alkalmazásának hatása farmakológiailag indukált menopausában patkány modellen.....	60
Összefoglalás.....	64
Summary	66
Irodalomjegyzék.....	67
Tárgyszavak	82
Saját közlemények.....	83
Köszönetnyilvánítás	85

Rövidítések jegyzéke

3-NT	3-nitrotirozin (3-nitrotyrosine)
ACE	angiotenzin konvertáló enzim (angiotensin-converting enzyme)
AGE	előrehaladott glikációs végtermékek (advanced glycation end products)
AHT	artériás hipertónia
AIR	autonóm idegrendszer
Akt	protein kináz B
ALP	alkalikus foszfatáz (alkaline phosphatase)
AMH	anti-Müllerian hormon (anti-Müllerian hormone)
AMI	acut myocardialis infarctus (acut myocardial infarction)
ANOVA	varianciaanalízis (analysis of variance)
apoB	apolipoprotein B
AT1	angiotenzin II receptor 1
BSA	szarvasmarha szérum albumin (bovine serum albumin)
CaCl ₂	kalcium-klorid (calcium-chloride)
CBG	kortikoszteroid kötő fehérje (corticosteroid binding globulin)
cGMP	ciklikus guanozin-monofoszfát (cyclic guanosine monophosphate)
CO	szén-monoxid (carbon monoxide)
CRF	cardiorespiratorikus fitness (cardiorespiratory fitness)
CRP	C-reaktív fehérje (C-reactive protein)
CV	cardiovascularis (cardiovascular)
CVD	cardiovascularis betegség (cardiovascular disease)
CYP2R1	citokróm p450 rendszer 2R1 enzimje (cytochrome P450 2R1 enzyme)
dH ₂ O	desztillált víz (distilled water)
DNS	dezoxiribonukleinsav (deoxyribonucleic acid)
DTNB	5,5'-ditio-bisz-2-nitro-benzoésav (5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid))
DTT	dithiothreitol (1,4-dithiothreitol)
E2	ösztadiol (estradiol)
ECM	extracelluláris mátrix (extracellular matrix)
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav (ethylenediaminetetraacetic acid)
ELISA	enzimhez kötött immunoszorbens esszé (enzyme-linked immunosorbent assay)
eNOS	endoteliális nitrogén monoxid szintáz (endothelial nitric oxide synthase)
FMP	végző menstruációs időszak (final menstrual period)
FSH	follikulus stimuláló hormon (follicle-stimulating hormone)
g	
GOT	glutamát-oxálacetát aszpartát aminotranszferáz (glutamate oxaloacetic transaminase)
GPT	glutamát-piruvát alanin-aminotranszferáz (glutamate pyruvate alanine aminotransferase)
GSH	glutation (glutathione)
GSSG	glutation-diszulfid (glutathione disulfide)
HDL	magas denzitású lipoprotein (high density lipoprotein)
HEPES	N-2-hidroxietilpiperazin-N-2-etán szulfonsav (N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethane sulfonic acid)
HFpEF	megőrzött ejekciós frakciós szívelégtelenség (heart failure with preserved ejection fraction)
HO	hem oxigenáz (heme-oxygenase)
HOMA-IR	inzulin rezisztencia index (homeostatic model assessment for insulin resistance)

HR	szívfrekvencia (heart rate)
HRP	torma peroxidáz (horseradish peroxidase)
HRT	hormonpótló terápia (hormone replacement therapy)
HT	magas triglicerid tartalmú (high-triglyceride)
i.m.	intramuscularis (intramuscular)
I/R	ischaemia/reperfusio (ischaemia/reperfusion)
ICH	ideális szív- és érrendszeri egészség (ideal cardiovascular health)
IgG2	immunoglobulin G2
IL	interleukin (interleukine)
ISO	izoproterenol (isoproterenol)
KCl	kálium-klorid (potassium chloride)
KH ₂ PO ₄	kálium-hidrogénfoszfát (monopotassium phosphate)
KTRL	kontroll
LAD	arteria interventricularis anterior (left anterior descendens)
LDH	laktát dehidrogenáz (lactate dehydrogenase)
LDL	alacsony denzitású lipoprotein (low density lipoprotein)
LDL-c	LDL-koleszterin (LDL cholesterol)
LH	luteinizáló hormon (luteinizing hormone)
LPL	lipoprotein lipáz (lipoprotein lipase)
MgCl ₂	magnézium-klorid (magnesium chloride)
MgSO ₄	magnézium-szulfát (magnesium sulphate)
MI	myocardialis infarctus (myocardial infarction)
MMP	mátrix metalloproteináz (matrix metalloproteinase)
MMP-2	mátrix metalloproteináz-2 (matrix metalloproteinase 2)
MPO	mieloperoxidáz (myeloperoxidase)
NaCl	nátrium-klorid (sodium-chloride)
NaHCO ₃	Nátrium-hidrogén-karbonát (sodium bicarbonate)
NAMS	Észak-Amerikai Menopauza Társaság (North American Menopausa Society)
NF-κB	nukleáris faktor-kappa B (nuclear factor kappa B)
NO	nitrogén monoxid (nitrogen oxide)
Nrf2	nukleáris faktor eritroid eredetű 2-es faktor (nuclear factor E2-related factor 2)
ONOO–	peroxinitrit (peroxynitrite)
OVX	ovariectomia (ovariectomy)
PAI-1	plazminogén aktivátor inhibitor-1 (plasminogen activator inhibitor 1)
PBS	foszfát-pufferelt sóoldat (phosphate-buffered saline)
PCOS	polycisztás ovárium szindróma (polycystic ovary syndrome)
PI3K	foszfatidil-inozitol-3-kinázok (phosphoinositide 3-kinase)
PM	postmenopausa
POVX	farmakológiai indukált ovariectomia (pharmacologically ovariectomized)
PWV	pulzushullám-sebesség (pulse wave velocity)
RANKL	NF-κB ligand receptor aktivátor (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)
RIPA	radioimmunoprecipitation assay
rpm	percenkénti fordulatszám (revolutions per minute)
RT	rezisztencia tréning
S.E.M.	az átlag standard hibája (standard error of mean)
SAH	szisztémás artériás hypertonia
SE	standard hiba (standard error)
SERM	szelektív ösztrogénreceptor-modulátor (selective estrogen receptor modulator)
SHBG	szexuál hormon kötő fehérje (sex hormone-binding globulin)

SIR	szimpatikus idegrendszeri
SnPP	ón-protoporfirin IX
SO	álműtét (sham operation)
STRAW	a reprodukív öregedés stádiumai (Stages of Reproductive Aging Workshop)
T2DM	2-es típusú diabetes mellitus (type-2 diabetes mellitus)
TBG	tiroxin kötő fehérje (thyroxine-binding globulin)
TBST	Tris-pufferelt sóoldat/Tween-20 (Tris-buffered saline/Tween-20)
TC	összkoleszterin (total cholesterol)
TIMPs	metalloproteinázok szöveti inhibitorai (tissue inhibitors of metalloproteinases)
TNF- α	tumor nekrosis faktor alfa (tumornecrosis factor alpha)
TTC	2,3,5-trifenil-tetrazolium-klorid (2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride)
VLDL	nagyon alacsony denzitású lipoprotein (very low density lipoprotein)
β -NADPH	β -nikotinamid-adenin-dinukleotid-2' foszfát (β nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)

Bevezetés

A becslések szerint 2030-ra világszerte körülbelül 1,2 milliárd nőt fog érinteni a menopausa, vagy a postmenopausa (PM), mely életszakaszba évente 47 millió nő lép be [1]. Ezeknek a nőknek több mint 85%-a várhatóan tapasztal zavaró tüneteket, amelyek magukban foglalhatnak olyan problémákat, mint a hőhullámok, az éjszakai izzadás, az alvászavarok, a szexuális diszfunkció, a hangulati zavarok, a súlygyarapodás és a kognitív hanyatlás [2, 3].

A menopausa egy fiziológias folyamat, amely során a női nemi hormonok, főként az endogén ösztrogén koncentrációja fokozatosan csökken, minek következtében számos szövet és szerv működése megváltozik. A cardiovascularis (CV) rendszer, a szénhidrát-, fehérje- és lipid anyagcsere, a csontok metabolizmusa jelentősen megváltozik az ösztrogén hiány hatására. Ezeken kívül sok esetben jelentkeznek vascularis tünetek is, melyeket összefüggésbe hoztak a menopausalis CV rizikó megnövekedésével.

A cardiovascularis betegségek világszerte vezető halálokok, melyek férfiak esetében kb. 10 évvel hamarabb jelentkeznek, azonban postmenopausalis korú női populációban is a leggyakoribb morbiditási és mortalitási okoknak tekinthetők.

Az ösztrogének bizonyítottan védő hatást jelentenek mind a cardiovascularis, mind pedig a csontrendszeri megbetegedésekkel szemben, mindazonáltal a menopauzális hormonpótló terápia (HRT) nem minden esetben javasolt, illetve CV kockázatokkal szemben nem hozza az elvárt hatásokat [4].

Számos kísérlet és klinikai tanulmány vizsgálta a menopausalis cardiovascularis betegségekkel szembeni lehetséges profilaktikus és terápiás lehetőségeket. Az eredmények tükrében a megelőzésben a legfontosabb az egészséges életmód kialakítása és hosszú távú megtartása, amelyhez hozzátartozik a rendszeres testmozgás, az egészséges étrend, illetve az egyéb kockázati tényezők lehetőség szerinti kiiktatása. Gyógyszeres kezelés indokolt a már fennálló betegségek kezelésére, illetve HRT-át is lehet javasolni a vasomotoros tünetek enyhítésére, az atherosclerosis megelőzésére, a korai atherogenesis kezelésére, valamint az osteoporosis profilaxisára és terápiájára.

Irodalmi áttekintés

A menopausa

A menopausa egy természetes és elkerülhetetlen élettani folyamat, a nők életének azon szakasza, amikor az ováriumok aktivitásának csökkenése folytán a menstruációs ciklusok hirtelen vagy fokozatosan megszűnnek [5]. A menopausa diagnózisa 12 hónapja fennálló, patológiás állapothoz nem köthető amenorrhoea esetén állapítható meg. Azonban menopausát autoimmun betegségek, mint Basedow-kór, nőgyógyászati sebészeti beavatkozások, egyes gyógyszerek, kemoterápia vagy sugárkezelés is kiválthatnak.

A klimax, vagyis a menopausalis átmenet első tünetei 40-45 éves korban jelentkeznek. A folyamat átlagosan 4-5 évig, de van, akinél az 50-es évei végéig is elhúzódhat. A menopausa leggyakrabban a 48-52 éves korban alakul ki, azonban 40 éves kor előtt is bekövetkezhet, ilyen esetben korai menopausáról beszélünk [6, 7]. Európában a menopausa átlagos életkora 51 év. Kialakulását számos tényező befolyásolja, mint például a dohányzás, az életmód, a táplálkozás, a testtömeg index, az etnikai származás, a családtörténet, a menarche életkora, menstruációs ciklusok rendszeressége, menstruáció (ciklus, vérzés) hossza, a terhességek száma, szoptatási időszak hossza, pre- és perimenopausalis időszak kezdete, illetve hossza, orális fogamzásgátlók használata, stb. [8, 9].

A „Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW)” 10 stádiumra osztja a reprodukciós öregedés folyamatát a női szervezetben, a menarchétól a postmenopausalis időszakig. A stádiumok definiálására és jellemzésére 3 csoportba – 1. Fő kritérium (menstruációs ciklus sajátosságai); 2. Támogató kritériumok (biokémiai és képalkotó paraméterek); 3. Leíró kritériumok (klinikai tünetek) – sorolható kritériumokat alkalmaznak (1. ábra) [10].

Menarche					FMP					
Stádium	-5	-4	-3b	-3a	-2	-1	+1a	+1b	+1c	+2
Definíció	REPRODUKTÍV SZAKASZ (PREMENOPAUSA)				MENOPAUSALIS ÁTMENET (KLIMAX)		POSTMENOPAUSA			
	Korai	Csúcs	Késői		Korai	Késői	Korai		Késői	
					PERIMENOPAUSA					
	változó				változó	1-3 év	2 év (1+1)	3-6 év	Hátralevő élettartam	
Fő kritériumok										
Menstruációs ciklus	rendszer- telen/ rendszeres	rendszeres	rendszeres	Időtartam/ mennyiség változása	változó hossz, ≥ 7nap, eltérő ciklusok közötti idő	amenorrhoea ≥ 60 nap				
Támogató kritériumok										
Endokrin FSH AMH Inhibin B			↓ ↓	változó ↓ ↓	↑ változó ↓ ↓	↑ > 25 NE/l ↓ ↓	↑ változó ↓ ↓	stabil ↓↓↓ ↓↓↓		
Antrális tüszők száma			↓	↓	↓	↓	↓↓↓	↓↓↓		
Leíró kritériumok										
Tünetek						vasomotoros tünetek	vasomotoros tünetek			urogenitális atrófia

1. Ábra. A reprodukív öregedés stádiumai (STRAW – Stages of Reproductive Aging Workshop)
FSH: follikulus stimuláló hormon; AMH: Anti-Müllerian hormon; FMP: végső (final) menstruációs időszak
([10] alapján szerkesztve)

A klimax, más néven klimaktérium vagy változókor, az az életszakasz, mely a fertilitási periódustól az öregedés korába vezet, tehát magában foglalja a menopausát közvetlenül megelőző illetve követő időszakokat. A premenopausa, illetve a perimenopausa jellegzetessége a női nemi hormonok, főként a (pro)gesztrogének szintézisének hanyatlása, a fertilizáció csökkenése és a follicularis fázis rövidülése, amely elsődlegesen a menstruáció rendellenességeiben nyilvánul meg. Postmenopausában a petefészkek egyre kisebb mennyiségű ösztrogént termelnek, megszűnik a progeszteron szintézis és az ovuláció is elmarad.

A menopausa klinikai tünetei

Menopausalis átmenet (perimenopausa)

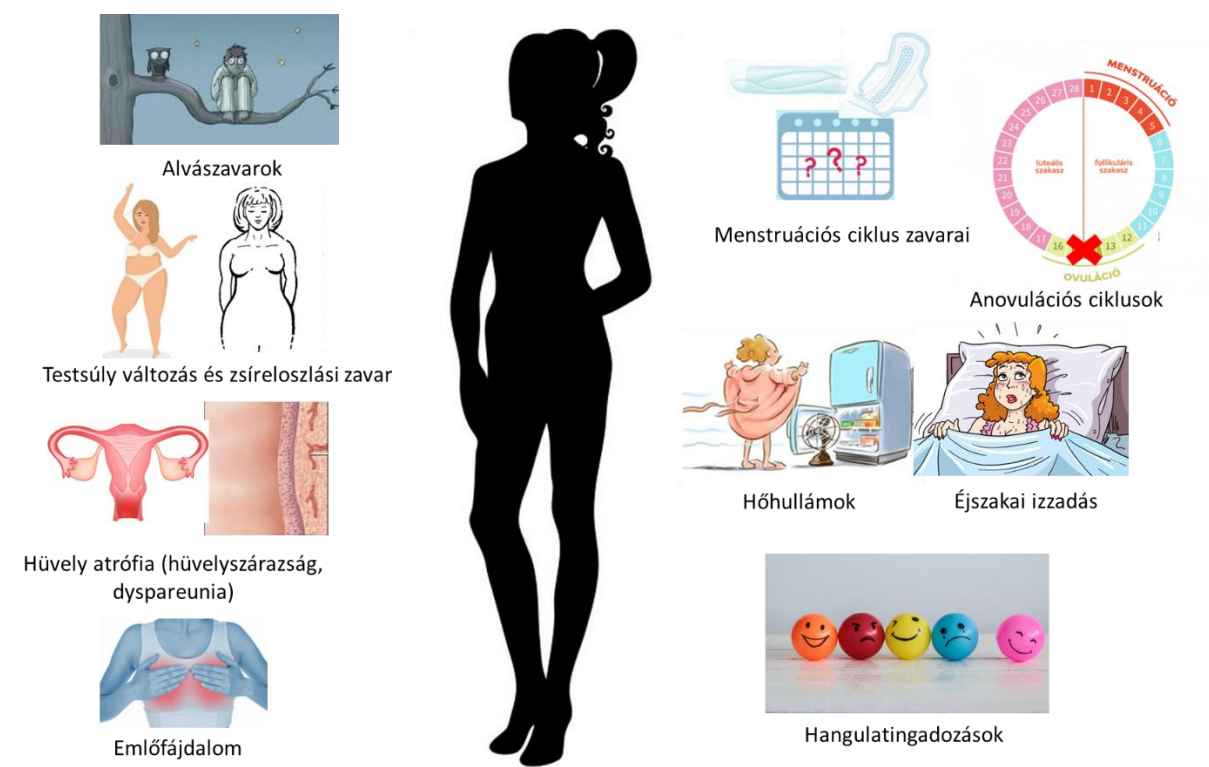
A menopausalis átmenet időszakában a menstruációs ciklusok szabálytalanná válnak. Jellemző a menstruációs ciklus megnövekedése (akár 40-50 nap is lehet), az amenorrhoeás időszakok, illetve az anovulációs ciklusok megjelenése, alvászavarok, hangulatingadozások, valamint a vasomotoros szindróma jelentkezése.

A vasomotoros tünetek a nők kb. 65%-át érintik. Általában 4 év az időtartama, de ez egyén függően variábilis [11]. Több tanulmány meta-analízisének konklúziója, hogy a vasomotoros szindróma a menopausa előtt 2 évvel már megjelenhet, az ezt követő első évben csúcsosodik ki, majd a következő tíz évben csökkennek a tünetek [11]. A vasomotoros szindróma leggyakoribb tünetei a hőhullámok és az éjszakai izzadás. A hőhullámokat a nők a mellkason és az arcon jelentkező hirtelen hőhullámként írják le, mely gyorsan generalizálódik. Gyakran kíséri tachycardia, palpitatio, kipirosodás, profúz verejtékezés, hidegrázás vagy szorongás. Általában 2-5 percig tart, de esetenként előfordul, hogy 30 percig is elhúzódik [7]. A hőhullámok naponta többször is előfordulnak, spontán, vagy külső tényezők (meleg, stressz, forró ételek, fűszerek vagy italok) hatására, de éjszaka gyakoribbak, mely esetben éjszakai izzadás formájában jelentkeznek és alvászavarokat is előidézhetnek [5]. A vasomotoros tünetek patomechanizmusa még nem teljesen tisztázott, de feltételezhető, hogy az alacsony ösztrogén, illetve a magas FSH (follikulus stimuláló hormon) és a csökkenő inhibin B szintek lecsökkentik a hypothalamusban az endorphin szintet, mely fokozott noradrenalin és szerotonin felszabadulást indukál. Ezen neurotranszmitterek a hőszabályozó központban csökkentik a küszöbértéket, ezáltal hővesztést váltanak ki. Több vizsgálat következtetése, hogy a vasomotoros tünetek összefüggnek a magasabb CV kockázattal. Azon nőknél, akiknél gyakoriak a vasomotoros tünetek, magasabb a hypertonia, az emelkedett szérum koleszterin szint, az atherosclerosis, a coronaria sclerosis vagy az ischaemiás stroke kockázata [12-15].

Az urogenitális rendszer leggyakoribb válasza az ösztrogén szintek csökkenésére a hüvelyszárazság és a dyspareunia, amelyek az ösztradiol (E2) hiány okozta atrophias vaginitis következményei [5, 16, 17]. Ugyanakkor az ösztrogén szint fluktuációja felelőssé tehető a korai premenopausában előforduló rekurrens emlő fájdalomért is.

Gyakoriak továbbá az alvászavarok, a hangulatingadozás, a depresszió, a kognitív változások (például feledékenység, figyelmetlenség) és a menstruációs migrén, melyek lehetnek másodlagos vasomotoros vagy urogenitális tünetek, de egyéb okokkal is összefüggésbe hozhatók [5, 16, 18, 19]. A menopausalis átmenet klinikai tüneteit a 2. ábra foglalja össze.

A menopausalis átmenet időszakában az FSH és LH (luteinizáló hormon) szintek elkezdnek emelkedni, míg az ösztrogén és a progeszteron szintek fokozatosan csökkennek [20]. Ugyanakkor az AMH (Anti-Müllerian hormon) szint, melyet ma már nem csak az in vitro fertilizáció kapcsán a petefészek rezerv felmérésére használnak, hanem a menopausa előrejelzőjeként is meghatároznak, valamint az inhibin (inhibin A és Inhibin B) fehérjék szintjének csökkenése egyaránt diagnosztikai értékű lehet [21-24].



2. ábra. Menopausalis átmenet tünetei

Menopausa

Menopausában és postmenopausában a menopausalis átmenet időszakában megjelenő tünetek, mint a vasomotoros, urogenitális, CV, csontrendszeri, neuroendokrin tünetek fokozódnak/súlyosbodnak, illetve újabb tünetek jelennek meg az ösztrogénhiány közép- és hosszú távú következményeként (3. ábra).

Az ösztrogénhiány jelentős mértékben befolyásolja a vérkeringést. A nemi szervek csökkent vérellátása nagymértékben hozzájárul az urogenitalis atrophia kialakulásához. A hám-, kötőszöveti atrophia, bőr és a nyálkahártyák szárazsága, a hajszálak szín- és fényvesztése és elvékonyodása, a parodontosis és a fogvesztés, továbbá a csontvesztés és az osteoporosis, a vázizomzat gyengesége és a tömegének csökkenése, valamint a kismedencei támasztó-függesztő izomzat gyengülése miatt kialakuló süllyedékes panaszok (cystocele, rectocele, prolapsus uteri) ugyancsak jellemző tünetei a menopausának és részben a keringési zavarok következtében alakulnak ki. Súlyosbodnak a kognitív funkció zavarai, gyakoribbá válik a feledékenység, a figyelem- és a memória zavarok, csökken a koncentráció képesség, illetve megnő a dementia kockázata [25, 26]. A HRT hatékonysága még mindig megkérdőjelezhető. Egyes vizsgálatok alátámasztják az ösztrogének kognitív funkciót javító hatásait [27, 28],

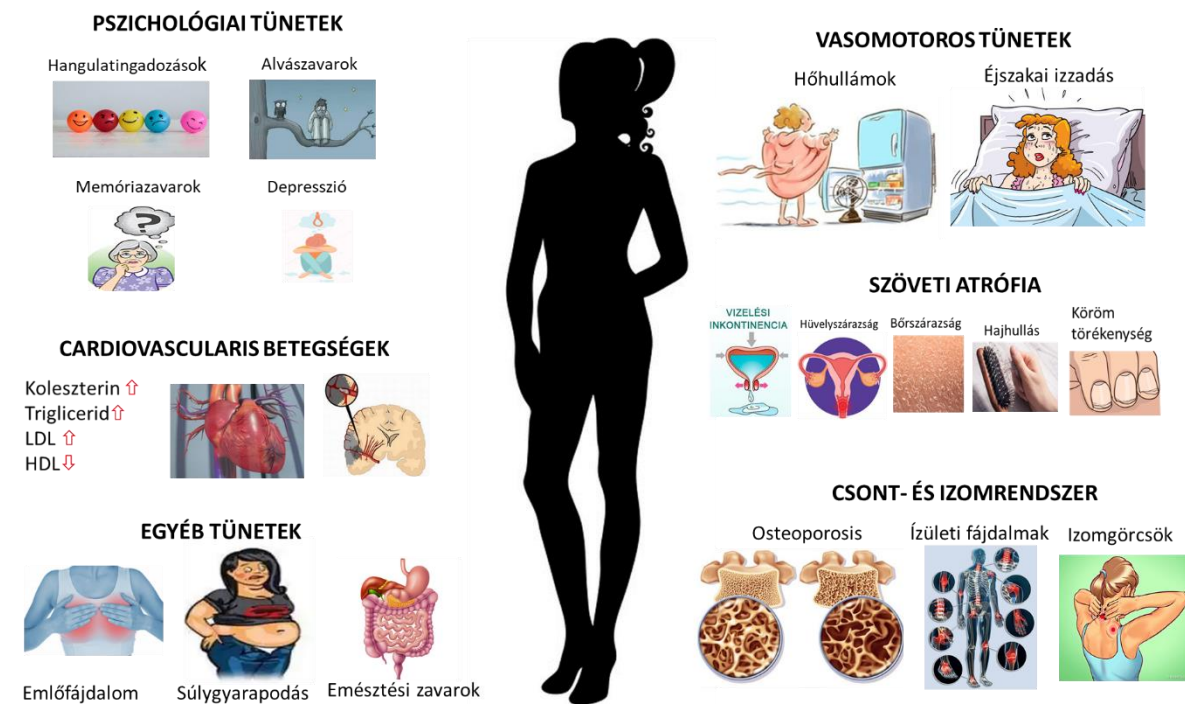
mások szerint a HRT alkalmazása 65 éven felüliek esetében inkább rontja, mint javítja a kognitív funkciókat, premenopausában viszont a HRT kedvező lehet [29, 30].

Az ösztadiol és a progeszteron secretio csökkenése fontos szerepet játszik a testfelépítés megváltozásában. A postmenopausa korai fázisában sokkal gyakoribb a hízás, és a zsíreloszlási zavar pedig centrális zsírlerakódás formájában mutatkozik meg, melyet a HRT megelőzhet [31-33].

Fokozódik a CV kockázat (AMI - acut myocardialis infarctus, stroke), elsődlegesen a szérumban a lipid szintek változásai, a keringési zavarok és az alvadási faktorok dysfunctiója következtében, illetve az inzulinrezisztencia és/vagy diabetes mellitus kialakulási rizikója is növekszik [22, 34].

Menopausában a női nemi hormonok szintje tovább változik a totális folliculus depletio következményeként [20-24]:

- az FSH koncentrációja az első években akár 10-20-szorosára is megemelkedhet, majd lassan csökkenni kezd, és végül stabilizálódik;
- az LH koncentrációk kisebb (kb. 3-szoros) emelkedést mutatnak;
- az ösztadiol szintje jellemzően alacsony, viszont obesitásban emelkedhet, elsődlegesen a tesztoszteron és androstendion szöveti (extraglanduláris) konverziójának következtében. Az SHBG (sex hormone-binding globulin) szintek csökkenése is hozzájárulhat a szérumban ösztadiol emelkedéshez, viszont menopausában az SHBG koncentráció enyhe csökkenése jellemző;
- az AMH szint, illetve az inhibinek koncentrációja jelentősen csökken. Míg az inhibinek szintje a felére csökken, az AMH koncentráció menopausában kimutathatatlan.



3. ábra. Menopausa tünetei

Az ösztrogének hatásai

Az ösztrogének a legfontosabb és a legnagyobb mennyiségben megtalálható nemi hormonok a női szervezetben [35]. Szerepet játszanak az embrionális fejlődésben, a nemi érésben, a másodlagos nemi jellegek kifejlődésében, a menstruációs ciklus neuroendokrin szabályozásában, továbbá az ovuláció, a megtermékenyítés és az implantáció folyamataiban [35, 36]. Ezen hatásokon kívül fontos szerepet töltenek be a növekedés folyamatában, a fehérje- és lipid metabolizmus, valamint a csont anyagcsere szabályozásában, továbbá az endokrin és CV rendszer homeosztázisának fenntartásában [35, 37, 38].

Az ösztradiol, mely a legnagyobb koncentrációban található meg a női szervezetben, fontos szerepet tölt be a CV betegségek profilaxisában, egyrészt mert kedvezően befolyásolja a lipid anyagcserét, ezáltal csökkentve az atherosclerosis kockázatát, másrészt pedig a keringésre gyakorolt hatásai által a vérnyomás szabályozásában is részt vesz.

Az ösztradiol csökkenti az LDL-koleszterin (LDL: low density lipoprotein) koncentrációt az LDL-clearance fokozása által, illetve az LDL partikulumok oxidációját, csökkenti a VLDL-koleszterin (VLDL: very low density lipoprotein) koncentrációt, azáltal, hogy a magasabb triglicerid tartalmú VLDL-partikulumok eliminációs rátáját növeli. További hatásai a

trigliceridek szintézisének és eliminációjának fokozása, a májban a lipoprotein lipáz (LPL) gátlása, a HDL-koleszterin (HDL: high density lipoprotein) koncentráció és lipoprotein „turnover” növelése [35, 39, 40].

A keringésre gyakorolt hatásukat tekintve, az ösztrogének csökkentik a plazma renin és angiotenzin konvertáló enzim (ACE) koncentrációját, meggátolva ezáltal az angiotenzin I átalakulását angiotenzin II-vé, illetve csökkentik az angiotenzin receptorok érzékenységét és az AT₁ (angiotenzin II receptor 1) expresszióját. Az ösztrogének ezen kívül indukálják az eNOS-t (endothelialis nitrogén monoxid szintáz) a PI3K és az Akt által közvetített szignál transzdukciós útvonalon, ami gyors NO szint emelkedést és ezáltal vasodilatációt eredményez [41]. A prosztaciklinek termelését is fokozzák, a simaizmokban pedig stimulálják a kalcium csatornákat, csökkentik az endothelin-1 (vasoconstrictor és proinflammatorikus peptid) koncentrációt, mely hatások egyaránt ér relaxációt okoznak [34, 41-43]. Az ösztrogének jelentős antiapoptotikus, gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatásokkal is rendelkeznek, továbbá a vascularis „remodelling”-et is befolyásolják a vascularis simaizomsejtek proliferációjának gátlása és az endothel sejtek növekedésének fokozása által [44-46].

A májban fokozzák egyes fehérjék szintézisét, úgymint transzferrin, angiotenzinogének, SHBG, CBG (corticosteroid binding globulin, kortikoszteroid kötő fehérje), TBG (thyroxine-binding globulin, tiroxin kötő fehérje), prothrombin, fibrinogén, VII., VIII., X. és XII. alvadási faktorok, fokozva ezáltal a véralvadási hajlamot, melyhez hozzájárul még a CRP (C-reaktív protein) és antitrombin III szintek csökkentése [35, 47]. Ugyanakkor a fibrinolitikus hatást fokozzák a PAI-1 (plazminogén aktivátor inhibitor-1) szint csökkentése által. Ezen mechanizmusok segítségével a procoagulációs és fibrinolitikus hatások egyensúlyban vannak [35, 47]. Itt fontos megemlíteni, hogy a fogamzásgátlók használata a folyamatot a prokoaguláns irányba tolja el, fokozva ezzel a trombózis hajlamot.

Az ösztrogének fontos szerepet játszanak a csont metabolizmusban is. Ösztrogén receptorok megtalálhatóak mind az osteoblastokban, mind pedig az osteoclastokban, melyekhez kapcsolódva szabályozzák a csontok metabolizmusát [48]. Szervi, szöveti és sejtszinten is befolyásolják a csont szerkezetet. Szervi szinten szerepük a csontszerkezet megtartása, szöveti szinten az osteogenesis és csontreszorpció közötti egyensúly megtartása, sejtszinten pedig az osteoclast és osteoblast fiziológiás szabályozása [36]. A csont metabolizmust az ösztrogének több mechanizmus révén befolyásolják: növelik az osteoblast aktivitást, fokozzák az osteoblastok proliferációját és a kollagén génexpresszióját, elősegítik az osteoblastok korai differenciálódását, az adipociták differenciálódását viszont gátolják. Az osteoclastokban

modulálják a lizoszomális enzimek szekrécióját és elősegítik az osteoclast apoptosist, ugyanakkor az osteoblast és osteocyta apoptosist gátolják. Az ösztrogének a csont metabolizmusban alapvető szerepet játszó hormonok aktivitását is befolyásolják. Fokozzák a kalcitonin szekréciót, ami megakadályozza a csont resorptiót, növelik a májban a citokróm p450 rendszer 2R1 enzim (CYP2R1), a vesében pedig az 25-hidroxivitamin D-1 alfa-hidroxiláz aktivitását, elősegítik a belekben a kalcium felszívódást és növelik az 1,25-dihidroxi-kolekalciferol expresszióját [36, 49-51].

A menopausa szövődményei

Az ösztrogénhiány hosszú távú következményei közül a CV kockázat fokozódása a legsúlyosabb, melyet a HRT nem képes érdemileg csökkenteni. A CV betegségek vezető halálokok postmenopausában, és átlagosan 9-10 évvel később jelentkeznek, mint férfiak esetében [52, 53]. A CV betegségek közül menopausában a leggyakoribb halálokok közé a coronaria betegség (beleértve az acut myocardialis infarctust és a coronaria microvascularis diszfunkciót), valamint az ischaemiás stroke tartoznak. Mindazonáltal a menopausalis morbiditás és mortalitás jelentős CV okai a hypertonia, a pitvarfibrilláció, a szívelégtelenség, és a cardiomyopathia (stressz cardiomyopathia) [54-56].

A CV megbetegedések elsődleges rizikófaktorai a hormonális állapot, valamint egyéb nő specifikus állapotok és társbetegségek, de természetesen a konvencionális rizikótényezők (mint a dohányzás, hypertonia, dyslipidaemia, obesitas, diabetes mellitus, sedentarizmus, stb.) szintén fontos szerepet játszanak a betegségcsoport kialakulásában [57].

A konvencionális rizikófaktorok közül a hypertonia, a dyslipidaemia, a diabetes mellitus és az obesitas egyaránt összefüggésbe hozhatók a menopausalis hormonális változásokkal.

Menopausában az ösztrogén szintek csökkenése maga után vonzza egyrészt a plazma renin aktivitásának és a szimpatikus tónusnak az emelkedését, másrészt pedig a NO, illetve az endothel kalcium csatorna mediálta vasodilatatio hiányát [42, 58, 59]. Mivel mindkét mechanizmus hypertonia kialakulásához vezet, 60 éves kor feletti nők esetében a hypertonia sokkal gyakoribb, mint férfiaknál [58].

Menopausában jelentősen megváltozhat a lipid-profil, növekedhet a triglicerid, az összkoleszterin, az LDL-koleszterin és az apoB szintje, míg a HDL-koleszterin koncentrációjának változása ellentmondásos (lehet magasabb, alacsonyabb vagy éppen

változatlan) [60-62]. Ezek az eredmények további kutatásokra ösztönöztek, melyek szerint a magasabb HDL-koleszterin szint menopausában inkább rizikófaktornak számít, mintsem protektív hatást gyakorolna. Ennek magyarázata a HDL-koleszterin partikulumok minőségromlása lehet menopausában [61, 63, 64].

Az elhízás, főként a visceralis zsír felhalmozódás és a zsíreloszlási zavar részben az ösztrogén szint csökkenésével és az FSH szint emelkedésével is összefüggésbe hozható [65]. Az inzulinrezisztencia és a 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásának kockázata szintén összefüggésben van az ösztrogén és FSH szintekkel. Klinikai vizsgálatok bizonyították, hogy postmenopausalis korban a magasabb ösztradiol szintek esetében az éhomi glükóz és inzulin koncentrációk, valamint a HOMA-IR is emelkednek, növelve ezáltal a diabetes mellitus kockázatát, míg a magas FSH szint a haskőrfogat és a HOMA-IR növelése által fokozza a rizikót [66-68].

A menarche életkora fordított arányban van a CV kockázattal, mindazonáltal a késői menarche nem jelent védelmet a CV betegségekkel szemben [69]. A korai menopausa ugyancsak összefüggésbe hozható a magasabb CV kockázattal [6, 53]. A policisztás ovárium szindróma (PCOS), a terhességi hypertonia, a preeclampsia, a vascularis endothel diszfunkció és a terhességi diabetes mellitus egyaránt növelik a CV kockázatát postmenopausában [70-74]. Ezen felül, klinikai vizsgálatok eredményei szoros összefüggést találtak a vasomotoros tünetek és a CV kockázat között. A súlyos vasomotoros tünetekhez hypertonia, emelkedett koleszterin értékek, szubklinikai atherosclerosis és megnövekedett CV történések társultak.

Újabb klinikai vizsgálatok szerint a CV kockázatot az epicardialis és a pericardialis zsírszövet mennyisége is jelentősen befolyásolja [75, 76]. Megfigyelték, hogy kortól függetlenül, a csökkent ösztradiol szinttel rendelkező nők esetében nagyobb a pericardialis zsír tömege, illetve, hogy a pericardialis zsír felhalmozódása szignifikánsan magasabb rizikófaktor, mint az epicardialis zsír mennyisége [77, 78].

Az ösztrogének előnyei a CV mortalitás csökkentésében összefüggnek az atherosclerosis kialakulásának lassításával, valószínűleg az LDL-koleszterin szint csökkentése és a HDL-koleszterin szint növelése által, illetve az endothel funkció javításával [79, 80].

Az ösztrogénhiány ugyancsak hosszú távú következménye az osteoporosis, mely már a menopausális átmenet elején elkezdődik és egyes esetekben súlyossá is válhat. A kalcitonin szekréció csökken, a csontok érzékenysége parathormonnal szemben fokozódik és megkezdődik a csont resorptio. Ezen túlmenően a mellékvesében a kortikális hormonok

aktivitásának befolyásolása révén késleltetik a csontképződést, továbbá csökken a bélben a kalcium felszívódás, növekedik a vizeletben és a székletben a kalcium ürítése [36]. Az osteoporosis rendszerint tünetmentes, az első tünetek (hát-, derékfájás, testmagasság csökkenése, leggyakrabban patológiás törések) általában előrehaladott stádiumban jelentkeznek, amikor gyakorlatilag a csont szerkezet 30%-a már érintett. Postmenopausában elsődlegesen a trabecularis csontok ritkulása figyelhető meg, melyek porózussá válnak, majd a későbbiekben ehhez társul a corticalis csontok ritkulása, aminek leggyakoribb következménye a csontok fragilitásának fokozódása és a csonttörések [81, 82].

A menopausa szövődményeinek profilaxisa és kezelése

A cardiovascularis szövődmények profilaxisa és kezelése

Nem farmakológiai kezelés

A CV betegségek megelőzésében elsődleges a kockázati tényezők lehetőség szerinti megszüntetése, de legalábbis a csökkentése. Javasolt az egészséges életmód kialakítása, amelyhez hozzátartozik a rendszeres testmozgás, az egészséges étrend, a kornak megfelelő normális testsúly megtartása, valamint az élvezeti szerek, mint alkohol és kávé mérsékelt fogyasztása, illetve a dohányzásról való leszokás [83].

A rendszeres testmozgás hatékonyan javítja a szív működését azáltal, hogy javítja a myocardialis vascularizációt és elindíthat egy CV adaptációt, mely magába foglalja a vérnyomás csökkentését, továbbá jótékonyan befolyásolja a szívizom remodellinget, főként az intersticiális myocardialis fibrosis (és így a kollagén tartalom csökkentése) révén [84, 85]. Ezen kívül állatkísérletek és klinikai vizsgálatok bizonyították, hogy a testmozgás kardioprotektív hatása elsődlegesen az antioxidáns védekező mechanizmusok aktiválásának a következménye [86].

Az egészséges táplálkozás alapja az alacsonyabb kalória, szénhidrát és zsírsav tartalmú ételek fogyasztása, mely javítja a szövetek inzulin érzékenységét, csökkenti a serum lipidek, első sorban a trigliceridek koncentrációját, ezáltal csökkentve az atherosclerosis és társult CV megbetegedések kockázatát, illetve hozzájárul a normál testsúly megtartásához is [87].

Az alkoholfogyasztás hatásait számos epidemiológiai study vizsgálta. A mérsékelt alkoholfogyasztás javíthatja a CV funkciókat, viszont hosszú távon az alkohol növelheti a keringési megbetegedések kockázatát. Azonban, mivel nem léteznek kontrollált randomizált

vizsgálatok, az egészségügyi szakemberek továbbra sem javasolják a mérsékelt alkoholfogyasztást elsődleges vagy másodlagos életmódbeli változtatásnak [88].

Farmakológiai kezelés

Az aktuális szakmai irányelvek szerint a menopausalis HRT vagy a szelektív ösztrogén receptor modulátor (SERM) kezelés nem javasolt a CV megbetegedések elsődleges vagy másodlagos prevenciójára [89]. Dyslipidaemiák esetében viszont a HRT javíthatja a lipid profilt, mivel csökkenti az LDL-koleszterinszintet és növeli a HDL-koleszterin koncentrációt [57, 90]. Atherosclerosis esetében a HRT kezelés csak kezdeti stádiumban javasolt, mivel előrehaladott atherosclerosisban növeli a mátrix metalloproteináz (MMP) expresszióját, ami az ateromatózus plakk rupturájához vezet [15].

A European Society of Cardiology irányelve szerint a vérnyomás gyógyszeres csökkentését érdemes már enyhe vérnyomás emelkedés esetén is elkezdni (systolés érték: 140-159 Hgmm, diastolés érték: 90-99 Hgmm), mivel a terápia szignifikánsan csökkenti a mortalitást, valamint a CV események számát is ilyen esetekben. A korábbi irányelvekkel ellentétben aspirin nem ajánlott primer prevenció részeként, ha nincs társbetegséggént jelen krónikus CV betegség, illetve a beteg nem szorul antikoagulálásra (pl. pitvarfibrilláció vagy vénás thromboembolia miatt) [91]. Dyslipidaemiák kezelésében elsőként választandó szerek a sztatinok [15, 83].

Az osteoporosis profilaxisa és kezelése

Nem farmakológiai kezelés

Az osteoporosis megelőzésében legfontosabb a kockázati tényezők csökkentése, valamint a csontépülés elősegítése. Menopausában a fokozott kalcium és D-vitamin igény, az ösztrogének védő hatásainak a jelentős csökkenése ellensúlyozható a kiegyensúlyozott, megfelelő kalcium és D-vitamin tartalmú diéta fogyasztásával, illetve a rendszeres fizikai aktivitással. Postmenopausában a női szervezetnek 1200-1500 mg kalciumra és 2000 NE D-vitaminra van szüksége. Meta-analízisek igazolták, hogy a kalcium szupplementáció nem csökkenti időskorban a fracturák kockázatát és az osteoporosisal összefüggő csonttörések rizikóját sem, viszont a kalcium hiány, főleg, ha a napi kalcium bevitel 700 mg alatt van, megnöveli a csonttörések, elsődlegesen a csípőtáji törések, kockázatát és az osteoporosis gyakoriságát [92-96].

A testmozgás jelentős mértékben hozzájárul a fracturák kockázatának csökkentéséhez, egyrészt azáltal, hogy javítja a csontminőséget a csont denzitásának optimalizálásával és ezáltal a csont

szilárdságának növelésével, másrészt pedig csökkenti az elesések kockázatát. Vizsgálatok bizonyították, hogy mind a cardio, mind pedig a statikus gyakorlatok pozitívan befolyásolják a lumbalis gerinc csontsűrűségét, azonban a combnyak törések megelőzésében a statikus gyakorlatok hatásosabbak [97, 98].

Farmakológiai kezelés

Az osteoporosis farmakológiai kezelésében alkalmazott készítményeket 2 csoportra osztjuk: antikatabolikus gyógyszerek (régén antireszorptív terápia) és anabolikus gyógyszerek.

Az antikatabolikus (antireszorptív) terápia elősegíti a csontok mikroarchitektúrájának megőrzését, csökkenti a performatív reszorpciót, növeli a csontok mineralizációját, csökkentve a csonttörés kockázatát.

Antikatabolikus (antireszorptív) gyógyszerek:

Biszfoszfonátok

A biszfoszfonátok a leggyakrabban használt készítmények osteoporosis megelőzésében és kezelésében. Gátolják az osteoclast aktivitást csökkentve ezzel a csontok reszorpcióját, továbbá gyulladáscsökkentő hatással is rendelkeznek [36, 99].

Calcitonin

A calcitonin gátolja az osteoclastok aktivitását és az osteoclast számot is csökkenti, továbbá kiemelkedő a csontfájdalom csökkentő tulajdonsága, ami előnyös osteoporosis és fracturák okozta fájdalmak esetében [36].

Menopausalis hormonpótló kezelés

A menopausalis HRT javasolt osteoporosis megelőzésében és kezelésében is, mivel gátolja a csont reszorpcióját, növeli a csontsűrűséget és csökkenti a csonttörések, főként a csigolyatörések kockázatát [36, 93, 100, 101].

Szelektív ösztrogén receptor modulátorok

Ösztrogén receptor agonista hatásokat fejtenek ki a csontban, növelik a csontok denzitását és csökkentik a fracturák kockázatát, viszont az emlőben és az endometriumban előforduló ösztrogén receptorokon inkább antagonisták, ezért nem fokozzák az itteni tumorok kialakulásának kockázatát. Mivel ugyanakkor a vasomotoros tüneteket nem enyhítik, az alkalmazásuk olyan nőknek ajánlott, akiknek már nincs menopausa szindrómája [36, 93, 100].

Denosumab

A denosumab egy humán monoklonális IgG2 (immunoglobulin G2) antitest. Az NF- κ B (nukleáris faktor-kappa B) ligand receptor aktivátor (RANKL) inhibitoraként fejti ki hatását osteoporosisban. Csökkenti az osteoclast képződést és aktivitást, ezáltal csökkenti a csontok reszorpcióját és növeli a csontok denzitását [102].

Anabolikus gyógyszerek

Teriparatid

A teriparatid egy rekombináns DNS technológiával előállított parathormon analóg, melyet jelenleg a csontképződés elősegítésére alkalmaznak. Fokozott csonttörési kockázattal járó osteoporosis kezelésében javasolt, mivel serkentheti az osteoblast aktivitást, növeli a csont denzitást, továbbá csökkenti mind a vertebrealis, mind a non-vertebrealis törések kockázatát [103, 104].

Cardiovascularis betegségek menopausában és postmenopausában

A CV megbetegedések vezető halálokok a nők körében is évente 8,6 millió halálesetet okozva, ami a nők halálozásának egyharmadát jelenti a világon [105]. A menopausa előtt a nők jellemzően kevésbé hajlamosak CV betegségekre, mint az azonos korú férfiak. Ez az előny azonban a menopausa beálltát követően fokozatosan csökken, ami aláhúzza a nemi hormonok jelentős hatását a különböző cardiometabolicus paraméterekre [106].

A menopausán áteső nők fokozott CV kockázattal szembesülnek olyan tényezők miatt, mint az öregedés és a hormonális változások. Ezt az időszakot az edzőkapacitás, az izomerő és a csonttömeg csökkenése, valamint a testtömeg növekedése és a diabetes mellitus gyakoribb előfordulása jellemzi. A menopausa során fellépő anyagcsere-változások megértése kulcsfontosságú a postmenopausás nőknél a CV betegségekre való hajlamuk korai kockázatértékeléséhez.

Az ösztrogénekről már leírtam, hogy döntő hatást gyakorolnak a CV rendszer egészségének különböző aspektusaira, beleértve az endothel funkciót, az értónust, a szívműködést, a lipidprofilokat és a gyulladásos markereket [107]. Az ösztrogén különösen fontos szerepet játszik a szív- és érrendszer egészségének megőrzésében azáltal, hogy védő hatást fejt ki az erekre, a szérum lipid profilokra és a gyulladásra (többek között, más kulcsfontosságú mechanizmusok mellett).

A petefészek hormonok szintjének csökkenése a menopausalis átmenet alatt és után jelentős szerepet játszik a nők CV betegségeinek kialakulásában. A betegségcsoport pathogenesisével összefüggésben a kutatások kimutatták, hogy az ösztrogénhiány és az elhízás egyaránt rizikótényezők, melyek hozzájárulnak a CV rendszer szerkezeti és szöveti átalakulásához, valamint a szívműködés megváltozásához [108-110].

Ahogy a nők átlépnek a menopausába, és az ösztrogénszint csökken, ezek a védőhatások is csökkennek, és érzékenyebbé teszik őket a CV betegségekre. Ezzel egyidejűleg a hormonális változásokkal és az egészségtelen életmóddal összefüggő, gyakori elhízás tovább növeli a kockázatot azáltal, hogy proinflammatoricus hatású, valamint elősegíti inzulinrezisztencia és más kóros folyamatok kialakulását a CV rendszerben.

Az ösztrogéntermelés hiánya endothel diszfunkcióhoz és a testtömeg-index növekedéséhez vezethet, mindkettő hozzájárulhat a hypertonia kialakulásához. Az artériás hypertonia (AHT) a CV mortalitás jelentős tényezőjeként ismert [111]. A különféle kockázati tényezők – köztük a pszichés stressz, a környezeti szennyező anyagoknak való kitettség, az egészségtelen életmódbeli szokások és a fizikai inaktivitás – hatása jelentős kutatási érdeklődés tárgyát képezi. Ezeket a tényezőket számos állapot kialakulásával hozzák összefüggésbe, beleértve a vasculomotor diszfunkciót, a neuropszichológiai problémákat, az endokrin és metabolikus zavarokat, valamint a CV problémákat. Ezek nemcsak az életminőséget rontják, hanem a hosszú távú prognózist is befolyásolják [112, 113].

A hypertonia a CV megbetegedések kialakulásához hozzájáruló elsődleges megelőzhető rizikófaktor, amely jelentős hatással van a globális morbiditásra és mortalitásra [114]. Az életkor előrehaladtával azonban a menopausa utáni nőknél általában kedvezőtlen változások következnek be az artériák falának merevségében, az izomerőben és az egészségi állapotban, amelyek szorosan összefüggenek az endokrin változásokkal. Különösen az ösztrogénszint csökkenése gyengíti a CV védőhatást, ami növeli a hypertonia prevalenciáját [115]. A menopausa utáni nők körében a hypertonia prevalenciája fokozatosan növekszik, ami növeli a CV betegségek morbiditását és mortalitását.

A fentiek miatt a postmenopausás nőknél lényegesen nagyobb lesz az ischaemiás szívbetegség kockázata, mint az azonos korú férfiaknál. A postmenopausában lévő nők ischaemiás szívbetegségének klinikai lefolyása is eltérő mintát követ: gyakoribbak a mikrokeringési rendellenességek, amelyek sokszor pozitív electrocardiographiás terhelési tesztben nyilvánulnak meg, az epicardialis artériák minimális hemodinamikai változásának ellenére [116]. A megnövekedett kockázat - a mikrovaskuláris diszfunkció mellett - gyakran olyan problémákkal függ össze, mint a kóros koszorúér-reaktivitás és a HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction: megőrzött ejekciós frakciójú szívelégtelenség) [117, 118].

Az ösztrogén kimerülése a korai diasztolés relaxáció és a késői diasztolés compliance kedvezőtlen változásaival is összefügg, ami hozzájárul a bal kamrai diasztolés diszfunkcióhoz, a fibrózishoz és a koncentrikus bal kamrai hipertrófiához. Ez a szív-remodelling általában a menopausális átmenethez kapcsolódik [119-121]. A bal kamra diasztolés diszfunkciója és a szív morfológiai változásai különböző tényezőkből fakadhatnak, beleértve a kollagén koncentráció növekedését, a fibrosist és a csökkent szív működést. Ezeket az elváltozásokat az autonóm idegrendszer és a renin-angiotenzin rendszer befolyásolja [122, 123]. Ezen kívül a klimaxos fázis negatívan hat a hemodinamikai profilra is, amelyet a véráramlás dinamikájának

kedvezőtlen megváltozása jellemez [124, 125]. Ezen túlmenően zavart szenved az autonóm idegrendszer egyensúlya is, ami a paraszimpatikus aktivitás csökkenéséhez és/vagy a szimpatikus aktivitás növekedéséhez vezethet. Az autonóm funkció ezen változásai hosszú távon rontják a szív teljesítményét és kedvezőtlenül befolyásolhatják a gyulladásos és oxidatív stressz markereket is.

Kimutatták, hogy az öregedési folyamat önmagában is autonóm, biokémiai és funkcionális változásokat idéz elő, amelyeket a menopausa súlyosbíthat. Ez aláhúzza a korai beavatkozások fontosságát a menopausa idején, hogy csökkentsék a nők öregedésének káros hatásait. Az öregedési folyamattal összefüggő autonóm diszfunkció megelőzése vagy javítása kedvezőbb gyulladásos illetve oxidatív stresszprofilhoz vezethet, segíthet megőrizni a megfelelő szívműködést, végső soron javítva a postmenopausás nők életminőségét és várható élettartamát (különösen azoknál, akik petefészek-eltávolításon estek át) [126].

Összefoglalva, a nőknél a premenopausából a postmenopausába való átmenet kritikus időszakot jelent, amelyben a hormonális eltolódások és a fiziológiai változások egymás hatását erősítve kedvezőtlenül befolyásolják a CV betegségek kockázatát és lefolyását. Ezeknek a bonyolult kölcsönhatásoknak a megértése alapvető a megelőzést és a kezelést hatékonyan szolgáló stratégiák kidolgozásához nőknél a menopausa átmenet idején és azon túl.

A testmozgás szerepe a cardiovascularis megbetegedések megelőzésében és kezelésében

A testmozgás széles körben elismert nem gyógyszeres beavatkozás a CV megbetegedések megelőzésére és kezelésére. Ez a terápiás eszköz jelentős CV adaptációhoz vezet, többek között csökkenti a vérnyomást, elősegíti a fiziológiás hipertrófiaként leírható jótékony szívizom remodellinget és enyhíti a myocardialis fibrosist [84, 85]. Ezen kívül az edzéssel kiváltott cardioprotectio szorosan összefügg az antioxidáns védekező mechanizmusok aktiválásával és a metabolikus kockázati tényezők mérséklésével [86].

Nőknél a menopausa után felgyorsul az érrendszer öregedése, ami fokozott artériás rigiditást eredményez [127]. Az artériás rigiditás életkorral összefüggő növekedését részben az artériák falában az extracelluláris mátrix (ECM) változásai okozzák. Ezek a változások magukban foglalják az elasztikus rostok rovására a kollagén felszaporodását (fibrosis) és a térhálósító molekulák megnövekedett szintjét, beleértve előrehaladott glikációs végtermékek (AGE - advanced glycation end products) képződését is [128, 129].

A perimenopausában lévő nők esetében gyakran tapasztalják az artériás vérnyomás tartós emelkedését, ennek ellenére kevés információ áll rendelkezésre az életminőség változásáról, és eddig nem kaptak kellő figyelmet olyan, kimondottan a perimenopausában lévő nők igényeire szabott rekreációs fizikai aktivitási programok, amelyek kifejezetten az életminőség javítását szolgálnák menopausában. Ismert, hogy a mérsékelt, aerob típusú fizikai aktivitás jelentősen hozzájárulhat az artériás hypertonia megelőzéséhez. Prospektív tanulmányok kimutatták, hogy a fizikailag inaktív középkorú egyéneknél 30%-kal nagyobb a CV betegségek kockázata. A rendszeres, mérsékelt fizikai aktivitás elősegíti adaptív válaszok kialakulását, a környezeti stresszorokkal szembeni fokozott immunitást, a szöveti anyagcsere fokozódását, a hypoxiával való jobb megküzdést és a szív működés nagyobb hatékonyságát [130-132].

A perimenopausában lévő nők életminőségének javítása érdekében elengedhetetlen átfogó wellness programok kidolgozása. Egy ilyen program legfontosabb összetevői a kinezioterápia (gyógytorna), a gondolkodás tréningje, a masszázs, de hasznos kiegészítést jelenthetnek a társadalmi kapcsolatok bővítését célzó kezdeményezések is. Az Észak-amerikai Menopausa Társaság (NAMS) azt ajánlja, hogy az enyhe vasculomotoros tüneteket tapasztaló nők kezelési tervük részeként először fontolják meg az életmódbeli változtatásokat és más gyógyszermentes beavatkozásokat [133].

A testmozgás a vérnyomás hatékony nem-gyógyszeres kezelési lehetőségének bizonyult [134]. Az aerob gyakorlatok széles körben ajánlottak a CV- és anyagcsere-paraméterekre kifejtett pozitív hatásaik miatt.

Különböző vizsgálatok kimutatták, hogy egyes rizikófaktorok (hypertonia, menopausa és fruktóz túlterhelés) társulása elősegíti a metabolikus, CV, vegetatív, gyulladásos és oxidatív stressz paraméterek további károsodását. Mind az aerob, mind a kombinált gyakorlatok, amelyek aerob és rezisztencia (vagyis ellenállással szembeni izomtevékenység) összetevőket tartalmaznak, képesek enyhíteni ezeket a működészavarokat [135-137]. Bár az aerob és a rezisztencia gyakorlatok nem változtatják meg jelentősen a nyugalmi vérnyomást ebben a kockázati tényezők kombinációjával járó modellben, pozitív hatást gyakorolnak a keringés autonóm szabályozására, ami az érrendszeri szimpatikus moduláció és a baroreflex érzékenység javulásához vezet [136].

Az aerob testmozgás jelentősen csökkentheti a postmenopausás nők vérnyomását függetlenül attól, hogy hypertóniában szenvednek-e vagy sem, továbbá javítja az endothel funkciót, a NO szintjét és az artériás együttműködést, valamint csökkenti az inzulinrezisztenciát [138-140]. Egyéb tanulmányok kimutatták, hogy a rezisztencia tréning jótékony hatással volt a vérnyomásra mind hypertóniás, mind nem hypertóniás postmenopausás nőknél [141-143]. A postmenopausás nők általában csökkent izomerőtől és -tömegtől szenvednek, ami az artériás merevség növekedésével függ össze [144, 145]. Ezután a megnövekedett artériás merevség hozzájárul a hypertonia kialakulásához. A legtöbb tanulmány azt mutatja, hogy a rendszeres állóképességi edzést végző postmenopausás nők esetében csökkent artériás rigiditás mutatható ki, mint mozgásszegény életmódot folytató társaiknál [146-148]. Ezen kívül egyes kutatások rávilágítottak a rugalmasság potenciális szerepére a nők [149] és az idősek [150] cardiometabolicus egészségének előmozdításában. Ezért tanácsos tehát a rezisztencia tréninget beépíteni a posztmenopausalis nők rutinjába.

Míg egyes kutatások szerint a testedzés a szisztolés és a diasztolés vérnyomás jelentős csökkenéséhez vezetett menopausás és postmenopausás nőknél [151], más vizsgálatok azt mutatták ki, hogy az aerob edzés önmagában nem okozott jelentős vérnyomáscsökkenést, viszont az aerob és az rezisztencia edzés kombinációja nagyobb csökkenést eredményezett. Számos korábbi tanulmány kimutatta, hogy a heti háromszor végzett aerob testmozgás jelentősen csökkenti a vérnyomást a postmenopausás nőknél [152-154], azonban a heti háromnál kevesebbszer végzett kombinált aerob és rezisztencia gyakorlatok is hatékonyan csökkenthetik a vérnyomásukat [155]. Az aerob és dinamikus rezisztencia gyakorlatok

kiegészítik egymást a menopausa által kiváltott hypertonia minimalizálásában azáltal, hogy javítják a CV betegségek kialakulásában részt vevő kulcsfontosságú mechanizmusokat [156]. Tekintettel arra, hogy az aerob és a rezisztencia gyakorlatok zömmel eltérő mechanizmusokon keresztül csökkentik a vérnyomást a postmenopausás nőknél, feltételezhető, hogy e két edzésforma kombinálása fokozott előnyökkel jár. Egyes kutatók ennek megfelelően javasolták, hogy az aerob testmozgást és a rezisztencia gyakorlatokat együtt alkalmazzák. A kombinált mozgás vérnyomáscsökkentő hatását az is növelheti, hogy a rezisztencia gyakorlatok növelik az izomerőt (és -tömeget), ez pedig fokozza az aerob mozgás hatékonyságát.

A nők öregedéssel kapcsolatos hormonális változásai összességében krónikus, alacsony fokú gyulladásos állapothoz vezetnek, ami kedvez a szisztémás artériás hypertonia (SAH) és a 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásának. A női nemi hormonok, különösen a 17β -ösztadiol szérumszintjének csökkenése több anyagcsere-utat és gyulladásos mechanizmust is befolyásol, ezen keresztül megváltoztathatja a zsírszövet eloszlását testben.

A hasi elhízás a metabolikus zavarok és a CV halálozás jelentős kockázati tényezője, különösen a postmenopausában levő nőknél [157-160], ezért számukra különösen fontos az elhízás elleni hatékony védekezés lehetőségeinek feltárása. A testmozgás jó stratégiának bizonyult az elhízás elleni küzdelemben. A nagyobb energiafelhasználás fogyasztó hatása mellett úgy tűnik, hogy bizonyos proinflammatorikus citokinek szérumszintje is csökkenthető ily módon [161].

A testmozgásról leírták, hogy hatékonyan ellensúlyozza a CV betegségekben kialakuló strukturális és funkcionális szívelváltozásokat azáltal, hogy gátolja a fiziológiás szívhipertrofia patológiás irányba való eltolódását. A testmozgás csökkenti a testtömeg indexet, javítja az inzulinérzékenységet, a glükózfelvételt és a lipidprofilt is [162]. A testmozgást végző idősebb nők, annak ellenére, hogy diabetes mellitusban és hypertóniában szenvednek, általános javulást mutatnak a különböző kockázati tényezőkre nézve, beleértve a kedvezőbb testarányokat (zsíreloszlást), vérnyomást, lipidprofilt és gyulladásos állapotot (figyelembe véve a pro- és antiinflammatorikus citokin szérumszintjeit). A lipidprofil nagymértékben befolyásolja az öregedést, különösen a 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő nőknél. Jellemzően a triglicerid és az LDL szérumszintje nő, míg a HDL szintje csökken, ami emelkedett CV kockázattal jár (aterogén lipid-profil) [163]. A fizikai aktivitás összefüggésbe hozható a cukorbeteg és hypertóniás, idősebb postmenopausás nők lipid-profiljának javulásával. Ez a javulás nemcsak az egyes paraméterekben volt megfigyelhető, hanem a HDL és bizonyos kockázati tényezők (például az LDL és a VLDL) közötti arányokban is.

Kimutatták, hogy a rezisztencia tréning (RT) nagy akut energiafelhasználással jár [164, 165]. Jól dokumentáltan javítja az inzulin hatását [166] és így egyensúlyba hozhatja a glükóz anyagcserét [167]. Ezek a kedvező hatások azonban csökkenhetnek mozgásszegény életmódot folytató nőknél olyan akut testmozgás után (például intenzív RT), ami izomkárosodást okoz [168]. Nunes és mtsai szerint az alacsony volumenű (kevésbé intenzív) RT hatékonyabban csökkenti a HbA1c%-ot, mint a nagy volumenű RT. Ehhez hozzá kell tenni, hogy a nagy volumenű RT HbA1c%-ot csökkentő hatása a postmenopausában lévő nőknél valamelyest megbízhatóbban jelentkezik. Az eredmények azt sugallják, hogy míg az alacsony volumenű RT főleg a HbA1c-t, az izomerőt és a testzsírszázalékot javítja, addig a nagy volumenű RT a derékbőség, a derék-csípő arány, az összkoleszterin (TC) és az LDL-koleszterin (LDL-c) csökkentésében teljesít jobban, továbbá gátolja az interleukin 6 (IL-6) növekedését is a postmenopausás nőkben [144]. Az életkorral összefüggő izomvesztést és gyengeséget tovább súlyosbítja az ösztrogén hormon csökkenése [169]. A vizsgálatok azt sugallják, hogy az 50 életév feletti nőknél megfigyelt csökkent izomerő összefügg a menopausa miatti ösztrogénhiánnyal [170]. Korábbi kutatások kimutatták, hogy az RT biztonságosan és hatékonyan beépíthető az idősebb nők terápiás programjába [171]. Az RT-t sokan használják az izomerő növelésére és az állóképesség fokozására az egészséges életmód részeként [172]. A hetente háromszor végzett RT csökkentheti a metabolikus szindróma ún. Z-pontszámát azáltal, hogy csökkenti az éhomi glükóz szintet, javítja a testzsírszázalékot és növeli az izomerőt. A metabolikus szindróma z-pontszámát nem más z-pontszámokhoz hasonlóan, számítják ki, hanem egy megerősítő faktoranalízisből származtatják, egy statisztikai technikával, amely a metabolikus szindróma különböző összetevői közötti összefüggéseket vizsgálja, beleértve az elhízást, a vérnyomást, a triglicerideket, a HDL-koleszterint és az éhomi vércukorszintet. Ez az analitikai megközelítés teszi lehetővé a metabolikus szindróma összetevői közötti, nemi és faji/etnikai hovatartozáson alapuló különálló összefüggések figyelembevételét [173, 174].

Egy rövid időtartamú hipertrófiás RT program a postmenopausás nők számára akár hetente kétszer is elvégezhető, beépíthető bármely testedzési programba, akár a progresszív RT program kezdeti szakaszába, akár más kezelésekkel kombinálva [142].

A legújabb szakirodalom hangsúlyozta a mozgásmennyiség és a fizikai edzettségi szint jelentőségét a CV megbetegedések prognózisában [153, 175-178]. Ezek közül azonban sok tanulmány elsősorban a cardiorespiratorikus alkalmasság, az izomerő és a CV betegségek kapcsolatára összpontosított. A fizikai erőnlét egyéb összetevőinek, például a rugalmasságnak és a gyorsaságnak (mozgékonyaságnak) a CV megbetegedések kockázatára gyakorolt hatása

továbbra is vita tárgya. Az egyik ilyen tanulmány legfontosabb megállapításai arra utalnak, hogy a kevesebb ülőmunka, a cardiorespiratorikus fitness (CRF), a felsőtest nagyobb rugalmassága és az alsó test nagyobb izomereje kedvezőbb CV egészségi profillal jár együtt, különösen a menopausán átesett nőknél. Számos tanulmány hangsúlyozta a különböző fizikai erőnléti összetevők védő szerepét a nők CV egészségében [149, 175-177]. A CRF-ről például kimutatták, hogy pozitív hatással van a testzsírszázalékra, a vérnyomásra, az autonóm idegrendszer aktivitására, a glükóz- és a lipid-profilra, a gyulladásra való hajlamra, és az oxidatív stresszre [149, 175-177]. Ami a rugalmasságot illeti, egy közelmúltbeli átfogó tanulmány [176] azt sugallta, hogy a vázizmok nyújtása csökkentheti a szimpatikus idegrendszer aktivitását és az artériás merevséget. Bár a kutatások nagy része a szív- és légzőrendszer alkalmasságára és az izomerőre összpontosított, egyre nyilvánvalóbbá válik, hogy olyan tényezők, mint az ülőmunka mennyisége, a rugalmasság és a gyorsaság szintén jelentős szerepet játszanak a CV egészségben, különösen a menopausán átesett nők esetében. Ezek az eredmények hangsúlyozzák a fizikai alkalmasság átfogó felmérésének fontosságát a CV betegségek kockázata szempontjából.

Vizsgálatok igazolják a különböző edzés protokollok specifikus étrendi bevitellel vagy vitamin kiegészítőkkel együtt történő hatását egészséges postmenopausás nők különböző egészségügyi paramétereire, beleértve a testösszetételt, a lipid- és a glükóz-profil, az antioxidáns állapotot, a protrombotikus terhelést és CV paramétereket [179-183]. Ez a kutatás különösen fontos mivel epidemiológiai vizsgálatok kimutatták, hogy menopausa után nagyobb a CV megbetegedések kockázata, mint a premenopausában lévő nőknél [184, 185]. Mind az öregedés, mind a menopausa a katekolaminok, különösen az adrenalin és a noradrenalin szintjének emelkedéséhez vezethet a keringésben. Ez vélhetően az autonóm idegrendszer aktivitásának csökkenését eredményezi, mivel az idősek és a postmenopausás populációk nyugalmi állapotában fokozott szimpatikus idegrendszeri aktivitást mutattak ki, ami edzés hatására csökkent [186]. A károsodott autonóm idegrendszeri aktivitás hozzájárulhat a CV betegségek kialakulásához, mivel magasabb katekolamin szinteket figyeltek meg ezen betegcsoportban, beleértve az idősebb, hypertóniában szenvedő egyéneket [187], a postmenopausás és hypertóniás nőket [188]. A megnövekedett pulzushullám-sebesség, az artériás merevség mutatója, az atherosclerosis, a magas vérnyomás és a szívbetegségek egyik fő kockázati tényezője, és gyakran megfigyelhető postmenopausás nőknél [189]. Az izomerőről úgy gondolják, hogy védő hatást fejt ki az artériás merevség [190] és a hypertonia [191] ellen, ami arra utal, hogy az izomerő javulása CV előnyökhöz és az általános egészségi állapot javításához

vezethet. Ezért kezelni kell a magas vér katekolamin szinteket, az artériás merevséget, a csökkent izomerőt és az izomtömeget, amelyet a postmenopausás hypertóniában szenvedő nők tapasztalnak. Ennek a populációnak egy előnyös edzésforma a Taekwondo lehet, mert különböző intenzitással végezhető, aerob és rezisztencia edzési komponenseket egyaránt tartalmaz, valamint javíthatja az izomerőt, a motoros koordinációt és a szív- és érrendszer egészségét [192, 193]. Irodalmi adatok azt mutatják, hogy a Taekwondo edzés hatékony terápiás megközelítés lehet a vér katekolamin szintjének, az artériás merevségnek, a vérnyomásnak és az izomerőnek a javítására a 2. stádiumú hypertóniában szenvedő postmenopausás nőknél. Ezért ezek az eredmények alátámasztják ezen edzéstípus használatát és ajánlását a CV betegségek kockázati tényezőinek megelőzésére és kezelésére ebben a populációban [187].

Bár a fizikai aktivitás és a strukturált testmozgás pozitív hatásai jól dokumentáltak, még mindig nem tartják be megfelelően az Egészségügyi Világszervezet (WHO) fizikai aktivitásra vonatkozó ajánlásait, különösen a nők körében [194]. A fizikai inaktivitás a globális mortalitás és a CV betegségek fő kockázati tényezője. Ez szorosan összefügg a súlyos menopausális tünetekkel és a postmenopausabeli nők elhízásával [195]. Az ülő életmódot szintén összefüggésbe hozták anyagcsere-rendellenességekkel, CV betegségekkel, malignus betegségekkel, pszichológiai szorongással és nagyobb mortalitással. Így az ülő tevékenység csökkentése alternatív stratégiát kínál a CV megbetegedések, valamint és a CV betegségek okozta halálozás kockázatának csökkentésére idősebb felnőtteknél [196].

A fizikai aktivitás és a testmozgási programok betartása egy másik kritikus tényező, amely befolyásolhatja az egészségügyi eredményeket, különösen az idősebb felnőtt populációban [197]. A gyakorlatok betartása általában akkor tekinthető sikeresnek, ha a résztvevők az idő legalább kétharmadában teljesítenek egy előírt gyakorlati rutint [198]. A strukturált testmozgás, amely a fizikai aktivitás egy strukturált és tervezett formája, számos pozitív hatással van a cardiometabolikus profilra az élettartam során, és jelentős szerepet játszik a menopausális átmenettel járó kedvezőtlen változások ellensúlyozásában. A fizikai aktivitás a hagyományos farmakológiai terápiák elengedhetetlen kiegészítőjévé vált és a közegészségügyi programok is egyre gyakrabban integrálják a rendszeres fizikai aktivitást, mint a krónikus betegségek kezelésének értékes eszközét [199, 200].

Jelenleg az American College of Sports Medicine és az American Heart Association hetente 150 perces fizikai aktivitást javasol felnőttek és idősek számára [201]. Ezen túlmenően, ha figyelembe vesszük a heti edzésidőt, a heti 150 percet vagy többet fizikai tevékenységet folytató

postmenopausás nők mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomás jelentős csökkenését tapasztalták azokhoz képest, akik heti 150 percnél kevesebbet sportoltak. Ez megfelel az Egészségügyi Világszervezet által javasolt minimális heti fizikai aktivitási időnek [202].

Úgy tűnik azonban, hogy a testmozgás mennyisége ugyancsak kritikus szerepet játszik a zsírvésvetés mértékében [203-206]. Feltételezhető, hogy a postmenopausás nők testzsírtartalmának csökkenése közvetlenül összefügg az izom aerob funkciójának fokozásával, a mitokondriális tartalommal [207, 208] és/vagy a megnövekedett energiafelhasználással [204, 209].

Általánosságban elmondható, hogy a rendszeres testmozgás, legyen az aerob vagy ellenálló edzés, segíthet a nők érrendszeri öregedésének mérséklésében. Fontos azonban megjegyezni, hogy ezek a hatások nem feltétlenül jelentkeznek az érrendszeri öregedés minden biomarkerén.

Mindezek rávilágítanak a testmozgásban rejlő mélyreható terápiás potenciálra, amely a CV betegségek megelőzésének és kezelésének sarokköve, sokrétű előnyökkel jár, magukban foglalják a CV rendszer szerkezeti, funkcionális és anyagcsere-javulását, még olyan helyzetekben is, ahol a hormonális egyensúlyhiány is szerepet játszik.

Összefoglalva, a testmozgás egy erőteljes és sokoldalú eszköz, amely pozitívan befolyásolhatja a postmenopausás nők egészségének különböző aspektusait. A CV előnyöktől kezdve a hormonális szabályozáson át a gyulladáskezelésig és az anyagcsere-javulásig a testmozgás kulcsszerepet játszik a jólét elősegítésében és a krónikus betegségek kockázatának csökkentésében. Tekintettel a nők növekvő várható élettartamára és a postmenopausa elhúzódó időszakára, a bizonyítékokon alapuló, a hormonális változásokhoz szabott edzésstratégiák beépítése elengedhetlenné válik az érrendszeri funkciók és az általános egészség megőrzéséhez.

Célkitűzések

Annak ellenére, hogy a CV betegségek halálozási aránya csökken, ezek a betegségek továbbra is vezető halálokok az idősebb nők körében [210].

Összehasonlítva a férfiakkal, nőknél körülbelül 7-10 évvel később jelennek meg a CV betegségek, viszont a progressziójuk jelentősen felgyorsul menopausa után [211]. Míg premenopausában előfordulásuk kisebb, mint a férfiak esetében, az arány kiegyenlítődik postmenopausában, előrehaladt korban pedig megfordul, és nők esetében sokkal magasabb lesz a CV morbiditás és mortalitás [212].

Az ösztrogén hiány következtében a CV betegségek, elsődlegesen az atherosclerosis, az ischaemiás betegségek és a hypertonia kockázata jelentősen megemelkedik postmenopausalis nőknél [213-215]. A hormonális változások a metabolikus funkciókat ugyancsak befolyásolják, ezáltal tovább növelve a CV kockázatot [216-218].

Vizsgálatunk elsődleges célja az volt, hogy megvizsgáljuk az önkéntes testmozgás utó kondicionáláshoz hasonló hatását a postmenopausalis CV kimenetekre myocardialis infarctus (MI) után, valamint a myocardialis ECM/kollagén homeosztázisra gyakorolt hatásait.

A postmenopausás nők gyakran tapasztalnak kedvezőtlen CV kimeneteket az ösztrogénhiány miatti MI után [219]. Ezért kulcsfontosságú a kockázati rétegződés és a terápiás megközelítések értékelése az MI utáni CV prognózis javítása érdekében. Korábbi kutatásaink során megállapítottuk, hogy az önkéntes testmozgás potenciális megelőző stratégiaként szolgál a cardiometabolicus paraméterek javítására kísérletes menopausában [220]. Ezen kívül pozitív hatást mutatott a szív remodellingre, és jelentősen csökkentette az ischaemia/reperfúziós károsodást [221].

Korábbi vizsgálatainkra építve a jelenlegi tanulmány egyik célja, hogy megvizsgáljuk az isoproterenol (ISO) által kiváltott szívkárosodásnak az antioxidáns és gyulladásos profilra gyakorolt hosszú távú hatását fertilis és különböző módon ösztrogénhiányos patkánymodellekben egyaránt. Hipotézisünk az volt, hogy az önkéntes fizikai testmozgás hatékony terápiás megközelítésként szolgálhat az ISO által kiváltott szívkárosodás enyhítésére.

Továbbá azt is feltételeztük, hogy a hosszabb távú önkéntes testmozgás hatékony stratégia lehet az ösztrogénhiányos állapotban kiváltott szív-remodelling hatás módosításában. A myocardialis ECM kulcsszerepet játszik a szív fejlődésében, a homeosztázis fenntartásában és remodelling

folyamatokban [222]. Mindezeket figyelembe véve, a jelen tanulmány második célkitűzése az volt, hogy feltárja a MMP-2 és a kollagén tartalom deregulációs és káros hatásaival szembeni lehetséges védőhatásokat, amelyek összefüggésben állnak az ischaemia/reperfúziós sérülés utáni necroticus arány kimutatásával.

Az érrendszeri öregedés felgyorsulása és a petefészek hormonszintjének csökkenése a menopausa során, jelentős következményekkel jár a CV prevenciós stratégiáinak proaktív végrehajtásában, amelyek a perimenopausalis szakaszban levő nőket célozzák meg. Ahogy a várható élettartam folyamatosan növekszik, a nők életük jelentős részét a postmenopausás szakaszban töltik. Ezért klinikailag elengedhetetlen a bizonyítékokon alapuló terápiás megközelítések alkalmazása a nők CV betegségeinek megelőzésére.

Mindazonáltal a jövőbeli kutatások egyik fontos területe az edzés optimális típusának, mennyiségének és intenzitásának meghatározása, amely hatékonyan javíthatja a nők érrendszeri egészségét. A jelenlegi ajánlások módosítást igényelhetnek, hogy figyelembe vegyék a nők hormonális állapotát, biztosítva, hogy a testmozgás minden előnye megvalósuljon.

A hatékony kezelési és beavatkozási stratégiák kidolgozásához elengedhetetlen, hogy átfogó képet kapjunk az érrendszeri öregedéssel kapcsolatos mechanikai hibákról és az érrendszer csökkent érzékenységről az idősebb nőknél. Ez a tudás a jövőbeli kutatások alappilléreként szolgál majd, lehetővé téve olyan nem-specifikus terápiás megközelítések kidolgozását, amelyek megőrzik a vascularis funkciót a nők életkorának előrehaladtával [127].

Anyagok és módszerek

Etikai engedélyek

Vizsgálataink során minden állatkísérletet a laboratóriumi állatok védelméről és használatáról szóló nemzetközi rendelkezések és az azokkal összhangban lévő, a Szegedi Tudományegyetem helyi etikai irányelveinek a betartásával végeztünk (I.74-40/2017. MÁB és 16/2007 DE MÁB).

A testmozgás szívizomra gyakorolt hatásainak vizsgálata ovariectomia indukálta patkány modellen

Kísérleti állatok

A kísérletekhez 180-200 g súlyú, 9 hetes nőstény Wistar (Toxi-Coop Zrt., Hungary) patkányokat használtunk. Az állatokat standard méretű ketrecekben – 3 állat/ketrec – helyeztük el a Szegedi Tudományegyetem Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék kísérleti állatházában, illetve a Debreceni Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének a kísérleti állatházában. Az egy hét akklimatizációs idő alatt, illetve a kísérleti periódus teljes ideje alatt a kísérleti állatházakban az állandó 20-23°C hőmérséklet és a 12-12 órás periódusokból álló sötét/világos megvilágítás biztosított volt.

Sebészeti beavatkozás

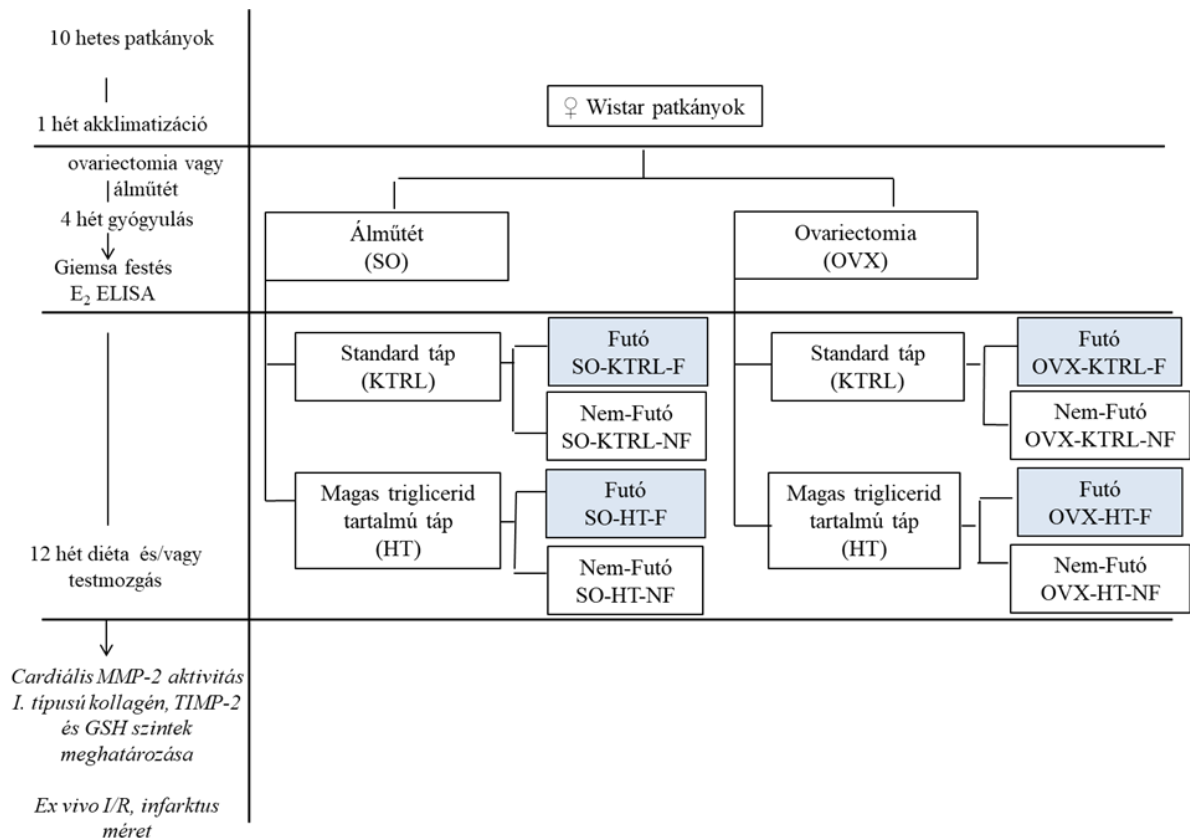
Az akklimatizációs időszak után, a 10 hetes patkányokon thiopentallal indukált altatásban (5 mg/100 g i.p.) ovariectomiát (OVX), illetve álműtétet (SO – sham operation) végeztünk. Az ovariectomia során kétoldali dorsolateralis bemetszést végeztünk, és a petefészkeket eltávolítottuk. Az álműtéten átesett állatok petefészkeit nem távolítottuk el, csak exteriorizáltuk, az azonos stresszhatás kiváltása érdekében.

Négy hetes felépülési idő után az OVX-indukált menopausa kialakulásának ellenőrzése céljából a szérum ösztrogénszintet ELISA (Quantikine patkány ösztrogén ELISA készlet, R&D Systems Inc.) módszerrel ellenőriztük [223].

Vizsgálati protokoll

Az OVX és SO csoportok állatait véletlenszerűen további 8 csoportba osztottuk, az elfogyasztott táp (szokásos rágcsálótáp – kontroll (KTRL) csoport és a magas triglicerid tartalmú táp – HT csoport), valamint a testmozgás (futó és nem futó csoportok) függvényében. A 12 hetes kísérleti periódus alatt a KTRL állatok standard rágcsálótápot, míg a HT csoport

állatai magas triglicerid tartalmú rágsálótápot (40% triglicerid és 60% standard táp keveréke) kaptak. Az ily módon kialakított csoportokat további 2-2 futó és nem futó alcsoportra osztottuk. A futó csoport állatait egyenként futókerékkel felszerelt ketrecekbe helyeztük napi 24 órás, 12 hétig tartó szabad hozzáférést biztosítva a futókerékhez, ezáltal csökkentve a kényszeres testmozgás okozta stresszhatást [224]. A nem-futó (3 állat/ketrec) állatok továbbra is standard méretű ketrecben lettek elhelyezve. A kísérleti időszak végén az állatokat a menstruációs ciklus pre-ösztrogén fázisában 100/5 mg/ttkg ketamin/xylazin túlaltatással extermináltuk. Az álműtött állatok ösztrogén fázisának ellenőrzéséhez Giemsa festést használtunk. A Giemsa festéshez az állatoktól fültisztítóval hüvelyváladékot vettünk és ezt tárgylemezre kentük. A kenetet 96%-os alkohol és éter 1:9 arányú keverékével fixáltuk és Giemsa oldattal (metilénazúr eozin) megfestettük. A megszűrt Giemsa-oldatot 3-5 percig a keneten hagytuk, majd forró vízzel lemostuk, desztillált vízzel öblítettük, és a keneteket mikroszkóp alatt vizsgáltuk. Az állatok kíméletes euthanasiája után a szíveket vagy Langendorff perfúziós rendszerbe helyeztük az ischaemia/reperfúziós károsodás ex vivo kimutatásának céljából (10 állat/csoport), vagy pedig azonnal lefagyasztottuk és -80°C-on tároltuk (10 állat/csoport) a későbbi biokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatok elvégzéséig. A vizsgálati protokoll sematikus tervét a 4. Ábra szemlélteti.



4. **Ábra. Vizsgálati protokoll.** SO – álműtét (sham-operated); OVX – ovariectomia; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta; SO-KTRL-F – álműtét, standard táp, futó; SO-KTRL-NF – álműtét, standard táp, nem-futó; SO-HT-F – álműtét, HT diéta, futó; SO-HT-NF – álműtét, HT diéta, nem-futó; OVX-KTRL-F – ovariectomia, standard táp, futó; OVX-KTRL-NF – ovariectomia, standard táp, nem-futó; OVX-HT-F – ovariectomia, HT diéta, futó; OVX-HT-NF – ovariectomia, HT diéta, nem-futó; TIMP-2 – Mátrix metalloproteinázok szöveti inhibitorai, GSH – glutation, I/R – ischaemia/reperfúzió

MMP-2 aktivitás

A szívizomszövetekből az MMP-2 aktivitását zselatin-zimográfiával határoztuk meg. A fehérjemintákat (50 µg) zselatinnal (20mg/ml, Sigma) kopolimerizált 8%-os poliakrilamid gélen elektroforézissel szeparáltuk. A futtatás után a géleket 2,5%-os Triton X-100 oldatban mostuk, ezt követően pedig aktivitáspufferben 20 órán át, 37°C-on inkubáltuk, majd 0.05% Coomassie Brilliant Blue festéssel vizualizáltuk az MMP-2 aktivitását. Az enzim 2 izoformájának identifikálásához fehérje létrát (Spectra Multicolor Broad Range Protein Ladder, Thermo Scientific) használtunk. A zimogrammok digitális szkennelése után a sávok optikai aktivitását Quantity One software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) segítségével mértük.

Össz-glutation (GSH+GSSG) szint

A myocardialis szövetmintákat (70 mg) 280 ml „A” homogenizáló pufferben (0,25 M szacharóz, 20 mM Tris, és 1 mM dithiothreitol (DTT)) centrifugálással (30 perc 15000 g, 4°C) homogenizáltuk. Az eltávolított felülúszó alikvotjait (150 µl) 600 µl „B” pufferrel (0,1 M

CaCl₂, 0,25 M szacharóz, 20 mM Tris, és 1 mM DTT) elegyítettük, 0°C-on 30 percig inkubáltuk, és ezt követően ismét lecentrifugáltuk (60 perc, 21,450g 4°C). Az enzim vizsgálatokhoz a citoszolikus frakciót használtuk. A glutation (GSH), glutation reduktáz, DTNB (5,5'-ditio-bisz-2-nitro-benzoészav), β-NADPH (β-nikotinamid-adenin-dinukleotid-2'-foszfát) törzsoldatokhoz 125 mM nátrium-foszfát és 6,0 mM EDTA oldatát használtuk hígító pufferként. Azonos mennyiségű (40 µl) háttér/standard/izolátumot, 20 µl DTNB törzsoldatot és 140 µl β-NADPH-t öt percig 25°C-on inkubáltunk. Ezt követően a reakció elindításához 10 µl glutation reduktázt használtunk és 10 perces várakozás után 405 nm hullámhosszon microplate reader-rel meghatároztuk az abszorbancia mértékét. Az össz-glutation szintet nmol/ mg fehérje értékben fejeztük ki.

Cardiomyocyták 3-nitritirozin (3-NT), szöveti (endogén) inhibitor 2 (TIMP-2) és I. típusú kollagén koncentrációjának meghatározása

A kísérlet végpontján (12 hét) az állatok szívét kimetszettük és lefagyasztottuk. Az enzim vizsgálatokhoz a mintákat foszfát pufferben (pH=7,4) szövet-homogenizátorral (Ultra-Turrax T8; 2 x 30 mp), ezt követően pedig centrifugálással (20 perc, 2000 rpm, 4°C) készítettük elő a vizsgálatokhoz, melyekhez kereskedelmi forgalomban kapható kiteket (GenAsia, Shanghai, Kína) használtunk. Az abszorbancia mérést 450 nm hullámhosszon (Benchmark Microplate reader; Bio-Rad) végeztük. A fehérje koncentráció meghatározásához 20 µl hígított homogenizátumot 980 µl dH₂O-val (desztillált víz) és 200 µl Bradford reagenssel (Bio-Rad Labs) összekevertünk, 10 percig szobahőn inkubáltuk és végül 595 nm hullámhosszon detektáltuk a minta optikai denzitását. Az eredményeket 3-NT esetében pmol/fehérje mg, I. típusú kollagén esetében pg/fehérje mg és TIMP-2 esetében ng/fehérje mg értékben fejeztük ki.

Ischaemia/reperfúziós vizsgálat protokollja

Általános érzéstelenítésben (30 mg/ttkg thiopental) az állatok szívét kipreparáltuk és azonnal jéghideg Krebs-Henseleit (11,2 mM glükóz, 1,24 mM KH₂PO₄, 20,1 mM NaHCO₃, 119 mM NaCl, 4,7 mM KCl, 1,25 mM CaCl₂, és 1,24 mM MgSO₄) oldatba helyeztük. Ezt követően a szívet egy Langendorff perfúziós rendszerbe illesztettük, melyben a szív retrográd perfúzióját 75 mmHg állandó nyomás alatt, az aortán keresztül végeztük, 37°C-os 5% CO₂-al és 95% O₂-el buborékolgatott Krebs-Henseleit pufferrel. Az ischaemiát a bal koszorúér elülső leszálló ágának (LAD – Left anterior descendens) 30 percig tartó ligatúrájával váltottuk ki, majd következett a reperfúzió 120 percig. A kísérlet végén a LAD-ot újból elzártuk és a perfúziót leállítottuk. Az ischaemiás terület meghatározásának céljából a szívet az aortán keresztül

beinjektált 1%-os Evans kék oldattal megfestettük, majd egy éjszakára -20°C-on lefagyasztottuk.

A myocardialis infarctus okozta necroticus terület kiterjedésének meghatározása

A fagyasztott szív szöveti mintákat keresztirányban 2 mm vastag szeletekre vágtuk és 10 percig 37°C-on 1%-os 2,3,5-trifenil-tetrazolium-klorid (TTC) oldatba áztattuk. A TTC festés után a szeleteket először 10 percre 10 %-os formalinba, majd foszfát pufferbe (pH=7,4) helyeztük át. Az inkubációt követően a szeletek mindkét oldaláról digitális kamera segítségével felvételeket készítettünk és kiszámítottuk az infarktusz terület méretét, melyet a veszélyeztetett terület százalékában fejeztünk ki.

Statisztikai módszerek

Az eredményeket átlag $\pm$ S.E.M-ben (standard error of mean: az átlag standard hibája) fejezzük ki. A csoportok közötti különbségeket varianciaanalízis (ANOVA) teszttel kiszámítottuk, és $p \leq 0,05$ értéket határoztuk meg szignifikancia határként.

A testmozgás utókezelésként való alkalmazásának hatása farmakológiailag indukált menopausában patkány modellen

Kísérleti állatok

A kísérletekhez 180-200 g súlyú nőstény Wistar (Toxi-Coop Zrt., Hungary) patkányokat használtunk. Az állatokat a Szegedi Tudományegyetem Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék kísérleti állatházában, illetve a Debreceni Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének a kísérleti állatházában tartottuk. Mindkét helyen biztosítottuk az állandó 20-23°C hőmérsékletet és a 12-12 órás periódusokból álló sötét/világos megvilágítást. Az állatokat standard méretű ketrecekben – 3 állat/ketrec – tartottuk, fito-ösztrogén-mentes táppal etettük (1. Táblázat), illetve csapvizet kaptak ad libitum.

1. Táblázat. Fito-ösztrogén-mentes táp összetétele

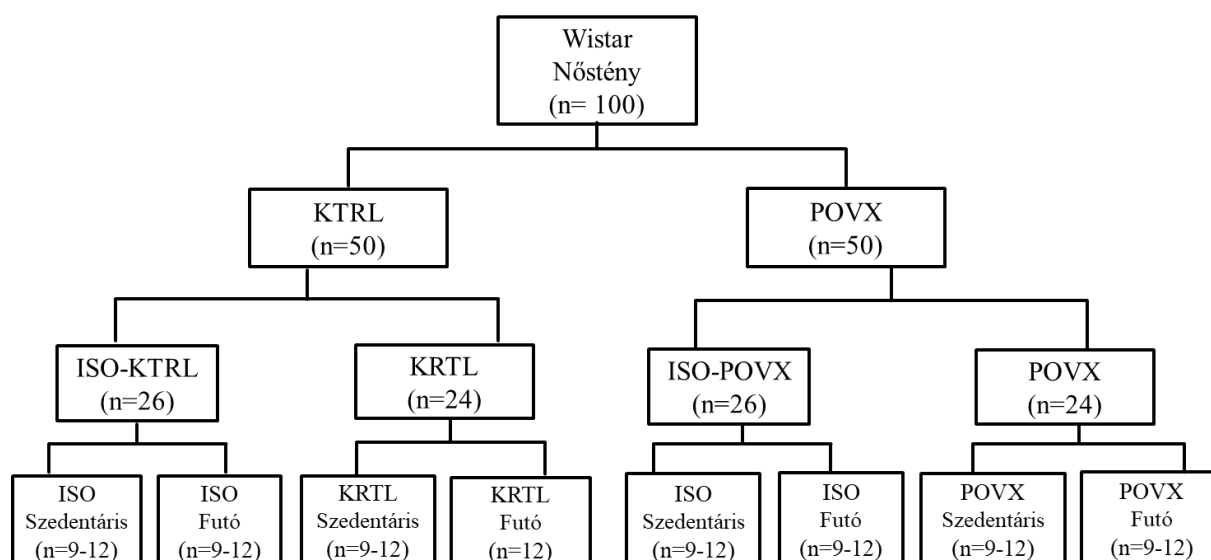
Fitoösztrogén-mentes táp tápanyag összetétele	
Cirok	58,4 %
Burgonyafehérje	15 %
Szentjánoskenyér liszt	13 %
Zsírsegevény édes savópor	5,5 %
Búzaszalma	5,0 %
Monokalcium-foszfát	1,5 %
L-lizin-HCl	0,7 %
NaCl	0,4 %
Vitaminok és mikroelemek keveréke	0,5 %

Vizsgálati protokoll

Egy hét akklimatizációs időszak után az állatokat (n=100) kontroll (KTRL) és farmakológiailag indukált ovariectomia (POVX) csoportokra osztottuk (5. Ábra). Az ösztrogénhiányos állapotot a POVX csoport állatainál 750 µg/kg triptorelin (Decapeptyl depot, Ferring Germany) 4 hetente történő intramuscularis (i.m.) beadásával idéztük elő. A kontroll csoport állatai ugyancsak 4 hetente az ekvivalens mennyiségű fiziológiás sóoldatot kapták i.m. A kezelés 56. napján megvizsgáltuk a POVX csoport állatainak ösztrogén szintjét kvantitatív enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálattal (Rat E2 ELISA kit, SunRed Biological Technology Co., Shanghai, China) [223].

Mind a kontroll, mind pedig a POVX csoportot további 2 csoportra – KTRL, ISO-KTRL, POVX és ISO-POVX – osztottuk. Az ISO-KTRL és a POVX-KTRL csoport állatainál myocardialis infarctust idéztük elő egyszeri 0,1 mg/ttkg (1 ml fiziológiás sóoldatban feloldva) isoproterenol/isoprenalin (ISO) (Sigma Chemicals Co.) subcutan beadásával. A többi állat (KTRL és POVX csoportok) hatóanyag nélküli 1 ml fiziológiás sóoldatot kapott subcutan. A myocardialis infarctus igazolásának céljából, az isoproterenol injekció beadása után 20 órával meghatároztuk a serum LDH (laktát dehidrogenáz) és myoglobin koncentrációkat, továbbá a szívizom károsodást 1%-os TTC festéssel támasztottuk alá, melyhez a fagyasztott szív szöveti mintákat keresztirányban 2 mm vastag szeletekre vágtuk és 10 percig 37°C-on 1%-os TTC oldatban tartottuk.

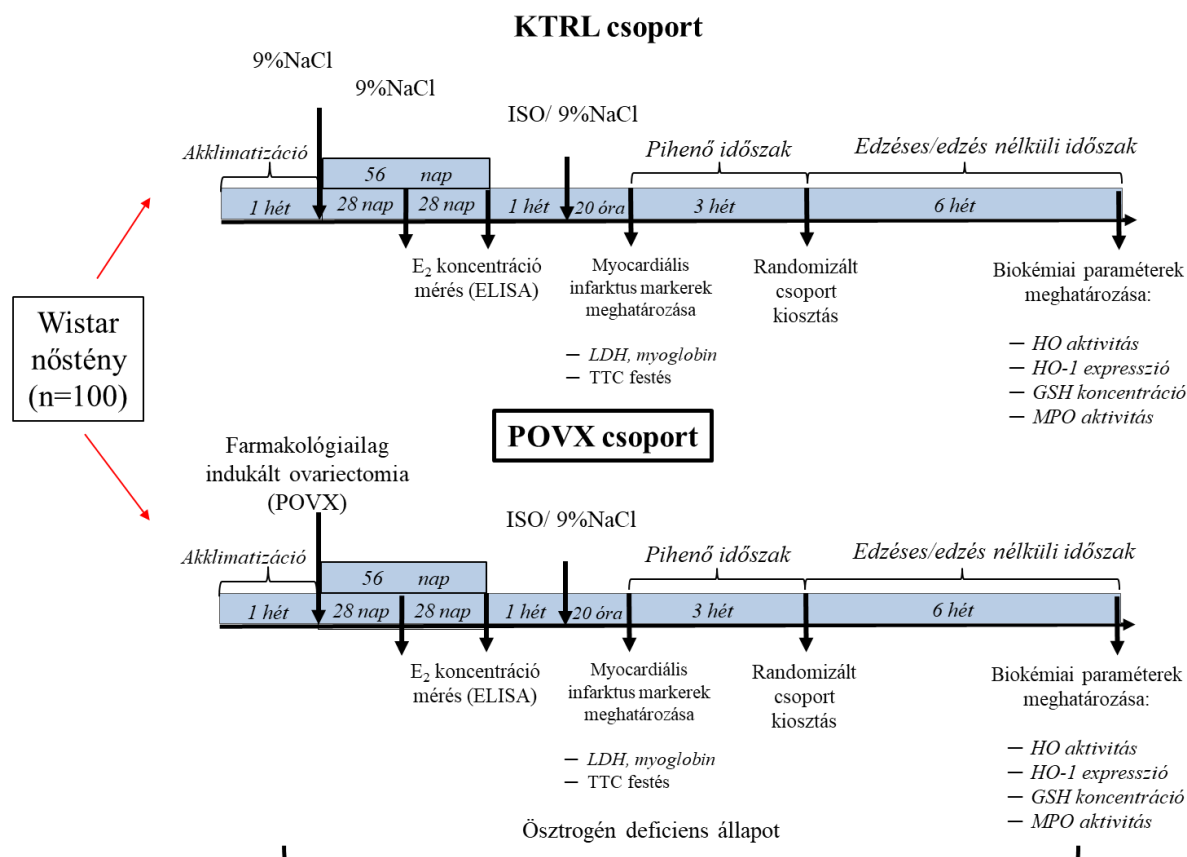
Az isoproterenol/fiziológiás NaCl kezelést követő 4. héten az állatokat további 2 – futó és nem-futó (szedentáris) – alcsoportra osztottuk. A futó csoport állatait speciális, futókerékkel felszerelt ketrecbe helyeztük át. Minden ketrecbe 2 állatot helyeztünk, a stresszhatás elkerülése, illetve a szocializálás fenntartása érdekében. Edzés protokollként az önkéntes futókerék használat modellt választottuk, amely által a kötelező (kényszerű) edzés okozta stresszt ki tudtuk küszöbölni [224]. Az önkéntes futókerék használat modell esetében az állatok a futókereket a nap 24 órájában szabadon használhatták. Az átlagosan lefutott távolság állatonként napi 4,0 km $\pm$ 10% volt. Az edzés protokollt 6 héten keresztül folytattuk. A nem-futó állatokat standard ketrecekben tartottuk (3 állat/ketrec) az edzési protokoll teljes ideje alatt.



5. *Ábra. A kísérleti állatok csoportosítása (KTRL – kontroll, POVX - Farmakológiailag indukált ovariectomia, ISO – isoproterenol kezelt)*

A kísérlet végpontján, a kísérleti állatok 100/5mg/ttkg ketamin/xylozin eleggyel történő exterminálása után a szívizom szövetből két mintát izoláltunk: az egyik mintát TTC-vel megfestettük, a másik mintát pedig szövet homogenizátorral megőröltük, majd -80°C-on tároltuk a további biokémiai vizsgálatok elvégzéséig.

A vizsgálati protokollt a 6. Ábra szemlélteti.



6. Ábra. Vizsgálati protokoll (KTRL – kontroll, POVX – Farmakológiai indukált ovariectomia, ISO – isoproterenol kezelt, E₂ – ösztadiol, LDH – laktát dehidrogenáz, TTC – 2,3,5-trifenil-tetrazolium-klorid, HO – hem oxigenáz, GSH – glutation, MPO – mieloperoxidáz, h – óra)

A myocardialis infarctus laboratóriumi paramétereinek meghatározása

LDH és myoglobin koncentráció meghatározása

Az LDH koncentráció meghatározásához, 20 órával az isoproterenol kezelést követően az állatoktól a v. saphena-ból vért vettünk. A vérmintákat lecentrifugáltuk (20 perc, 2000 rpm, 4°C). Az így nyert szérumból, forgalomban kapható kiteket (GenAsia Biotech Co., Ltd, Shanghai, China) használva, 450 nm-en meghatároztuk az LDH, illetve a myoglobin

koncentrációkat Benchmark Microplate (Bio-Rad) készüléssel. Az LDH koncentrációt U/l, míg a myoglobin koncentrációt ng/ml-ben fejeztük ki.

GOT (glutamát-oxálacetát aszpartát aminotranszferáz), GPT (glutamát-piruvát alanin-aminotranszferáz) és az ALP (alkalikus foszfatáz) koncentráció meghatározása

A GOT, GPT és ALP szintek meghatározása Biolis 24i Premium system (Siemens) analizátorral történt az isoproterenol kezelés után 20 órával levett vérmintából. A GOT és a GPT abszorbanciákat 340 nm-en, az ALP abszorbanciáját pedig 405 nm-en detektálta a készülék, az alkalmazott mértékegység a koncentráció kifejezésére az U/l volt.

A cardiomyociták antioxidáns státusának felmérése

HO-1 aktivitás

A HO-1 aktivitás meghatározásához 70 mg, a patkányokból izolált, myocardialis szövetet 280 ml jéghideg pufferben (10,0 mM HEPES, 32,0 mM szacharóz, 1,0 mM DTT, 0,10 mM EDTA, 10,0 µg/ml tripszin inhibitor, 10,0 µg/ml leupeptin és 2,0 µg/ml aprotinin), (pH=7,4) centrifugálással (20 perc, 15000 g, 4°C) homogenizáltuk. A felülúszót összegyűjtöttük és elkészítettük a reagens elegyet. A reagens elegy 1,5 ml összterefogatban a következőket tartalmazta: 2,0 mM glükóz-6-foszfát, 0,14 U/ml glükóz-6-foszfát dehidrogenáz, 15,0 µM hemin, biliverdin reduktáz forrásként 120,0 µg/ml patkány máj cytosol, 2,0 mM MgCl₂·6H₂O, 100,0 mM KH₂PO₄ és 150 µl felülúszó. A kémiai reakciót 100,0 µl redukált β-NADPH hozzáadásával indítottuk el, és jégen való hűtéssel állítottuk le 60 perces 37°C-on történő inkubálás után. A bilirubin koncentrációt 465 és 530 nm-en meghatároztuk, majd kiszámoltuk a két hullámhosszon mért eredmények különbségét. A HO aktivitást az óránként és fehérje mg-ként termelt bilirubin koncentrációban határoztuk meg, nmol-os nagyságrendben.

HO-1 koncentráció

A HO-1 koncentráció szemi-kvantitatív meghatározása Western blot vizsgálattal történt. A patkányok szívizomszövetét RIPA (radioimmunoprecipitation assay) pufferben, 10 perces szonikálással (UP-100H, Hielscher, Teltow, Germany) homogenizáltuk. A homogenizátumot lecentrifugáltuk (10 perc, 12000 rpm, 4°C), majd 5 percig forraltuk. Azonos mennyiségű fehérjéket (80 µg) gél-elektroforézissel szeparáltunk 10%-os poliacrilamid gélen (90 V/2 gél), majd nitrocellulóz membránra transzferáltuk (35 V/2 gél, 2,5 óra). A végső HO-1 jelérzékenység növelése érdekében a membránokat Pierce Western Blot Signal Enhancer-rel (ThermoFisher Scientific) inkubáltuk, majd egy éjszakán át blokkoltuk 5%-os Tris-pufferolt

Tween 20 sóoldatban. Anti HO-1 nyúl poliklonális primer antitesttel (1:500, ab82219, Abcam) 4 órán át szobahőn inkubáltuk a membránokat. A membránokat 3x10 percig TBST oldattal (Tris-buffered saline/Tween-20: Tris-pufferelt sóoldat/Tween-20) átmostuk, és 1 órán át szekunder antitesttel (bovine anti-rabbit IgG-horseradish peroxidase, 1:5000, sc-2370, Santa-Cruz Biotechnology) inkubáltuk. Kontroll fehérjének β -aktint használtunk. A detektáláshoz a membránokat éjszakára 5% BSA (bovine serum albumin) oldattal blokkoltuk. A mosást követően a membránokat először egér anti- β -aktin antitesttel inkubáltuk (1:4000, 2 óra, ab20272, Abcam), majd poliklonális nyúl egér ellenes HRP (horseradish peroxidase: torma peroxidáz) ellenanyaggal (1:2000, 1 óra, Dako). A megfelelő fehérje meghatározáshoz MagicMark XP Western protein standardot (Invitrogen, ThermoFisher Scientific) használtunk. A standard kilenc rekombináns fehérjét (20 és 220 kDa) tartalmaz, és elősegíti mind a HO-1, mind a β -aktin fehérjék azonosítását. Az előhíváshoz Uvi Chemi Pro szennert, az eredmények kiértékeléséhez és ábrázolásához Quantity One szoftvert (Bio-Rad) használtunk.

Össz-glutation koncentráció

Az izolált patkány szívizom szövetet (70 mg) 4x-es mennyiségű „A” pufferben (0,25 M szacharóz, 1 mM DTT és 20 mM Tris oldat) homogenizáltuk, és 30 percig (15000 g, 4°C) centrifugáltuk, majd 150 μ l felülúszóhoz 600 μ l B puffert (0,1 M CaCl_2 , 0,25 M szacharóz, 20 mM Tris és 1 mM DTT) pipettáztunk. Ezt követően 0°C-on, 30 percig inkubáltuk az elegyet, majd ismét lecentrifugáltuk a mintát (60 perc, 21450 g, 4°C). Hígító pufferként 125 mM Na-foszfát és 6,0 mM EDTA tartalmú oldatot használtunk a GSH, GSH reduktáz, DTNB és β -NADPH törzsoldatokhoz. A plate minden well-jébe a következőket pipettáztuk: 40 μ l háttér/standard/minta, 20 μ l DTNB törzsoldat és 140 μ l β -NADPH, majd 5 percig 25°C-on inkubáltuk a plate-et. A reakció elindítása 10 μ l GSH reduktáz adagolásával történt, és 10 perccel ezután az abszorbanciát 405 nm-en mértük le. A spektrofotometriás vizsgálat során a GSH szakaszosan oxidálódott a DTNB által, illetve a NADPH redukálta, GSH reduktáz jelenlétében. Az össz-GSH koncentrációt nmol/mg fehérje értékben határoztuk meg [225].

Myocardialis GSH és TNF- α szint

A szívizomszövetet 7,4 pH-jú foszfát pufferben homogenizáltuk (Ultra-Turrax T8, 2 $\times$ 30 s), majd 20 percig (2000 rpm, 4°C) centrifugáltuk. A GSH és TNF- α koncentrációkat kereskedelmi forgalomban kapható kit-kel (GenAsia) 450 nm-en határoztuk meg (Benchmark Microplate reader, Bio-Rad). A GSH szinteket mg/l, a TNF- α szinteket pedig pg/mg értékben fejeztük ki.

Mieloperoxidáz (MPO) aktivitás

Az MPO aktivitás meghatározásához a szívizom szövetet jéghideg PBS (phosphate buffered saline: foszfát pufferelt sóoldat) és 0,5%-os hexadecil-trimetil-ammónium-bromid oldattal (pH= 6,0) homogenizáltuk. Háromszori fagyasztás és kiolvasztás után a mintákat lecentrifugáltuk (15 perc, 15000 g, 4°C). A felülúszóból 12- μ l-t hozzáadtunk egy 280 μ l PBS (pH= 6,0) és 0,167 mg/ml O-dianisidin-dihidroklorid tartalmú oldathoz és 10 μ l 0,03%-os hidrogén peroxiddal beállítottuk a reakciót. 90 mp-es rázatás után a cardialis MPO aktivitást 490 nm hullámhosszon μ U/fehérje mg értékben határoztuk meg.

Összfehérje szint meghatározása

Az összfehérje koncentráció meghatározásához a Bradford módszert alkalmaztuk. A hígított fehérjemintákból 20 μ l alikvottokat összekevertünk 200 μ l Bradford reagenssel (Bio-Rad Laboratories) és 10 perces keveréses inkubáció után spektrofotometriás módszerrel, 595 nm-en meghatároztuk a fehérje koncentrációkat, melyeket mg/ml értékben fejeztünk ki.

Statisztikai módszerek

Az eredményeket átlag $\pm$ SE (standard hiba) formátumban ábráztuk. Az adatok normalitását Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük, a csoportok közötti különbségek determinálásához pedig egyszempontos varianciaanalízist alkalmaztunk, melyet Tukey post-hoc teszttel egészítettünk ki. Ha $p \leq 0,05$ volt, az eredményeket szignifikánsnak tekintettük. Ezen kívül megvizsgáltuk a három paraméter (ISO kezelés, ösztrogén státusz és testmozgás) párosított kombinációinak kölcsönhatását kétutas ANOVA-val és Tukey post-hoc teszttel.

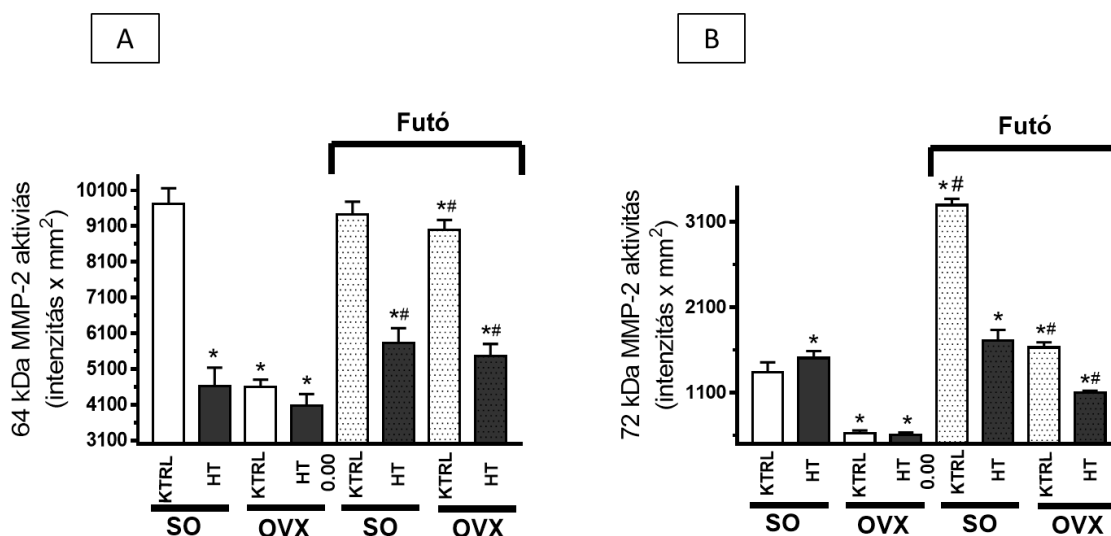
Eredmények

A testmozgás szívizomra gyakorolt hatásainak vizsgálata ovariectomia indukálta patkány modellen

Az ösztrogén hiány, a diéta és a testmozgás hatása a cardialis MMP-2 aktivitásra

Annak érdekében, hogy felderítsük, milyen szerepet játszanak a cardialis fibrosis pathomechanizmusában az ösztrogén hiány, a diéta és a testmozgás, meghatároztuk az MMP-2 fehérjék 64kDa és 72kDa izotípusainak aktivitását a kísérlet végpontján. Az SO-HT-F, az OVX-KTRL-NF és az OVX-HT-NF csoportoknál a 64kDa MMP-2 aktivitása szignifikánsan kisebb volt ($p < 0,05$) az SO-KTRL-NF csoporthoz viszonyítva. A testmozgás jelentősen megemelte ($p < 0,05$) a fehérje aktivitását mind az SO-HT-F, mind pedig az OVX-CTR-F és OVX-HT-F csoportok állatainál, a nem futó társaikkal szemben. A futó állatoknál azt tapasztaltuk, hogy a zsírdús táplálék szignifikánsan csökkentette ($p < 0,05$) az értékeket mind az álműtött, mind pedig az ovariectomizált csoportokban.

A 72kDa izoforma aktivitása jelentősen alacsonyabb volt a zsírdús táppal etetett ovariectomizált nem-futó állatoknál. A testmozgás jelentősen javította az értékeket, mind az álműtött, mind pedig az OVX állatoknál, a kontroll csoporthoz viszonyítva, illetve a nem-futó társaikhoz viszonyítva ($p < 0,05$). A legmagasabb értékeket viszont az SO-KTRL-F állatoknál kaptuk. Az eredményeket a 7A. és 7B. ábrák szemléltetik.

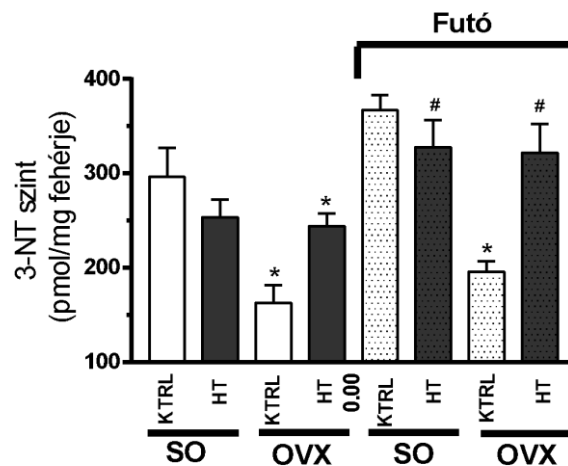


7. Ábra. A: A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai a cardialis 64kDa MMP-2 aktivitásra (intenzitás × mm²-ben kifejezve). Az eredményeket átlag ± SE fejeztük ki (n = 12). B: A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai a cardialis 72kDa MMP-2 aktivitásra (intenzitás × mm²-ben kifejezve). Az eredményeket átlag ± SE

fejeztük ki ($n = 12$) A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között. (SO – álműtött/sham-operated; OVX – ovariectomizált; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta).

A 3-NT (3-nitrotirozin) szint változásai

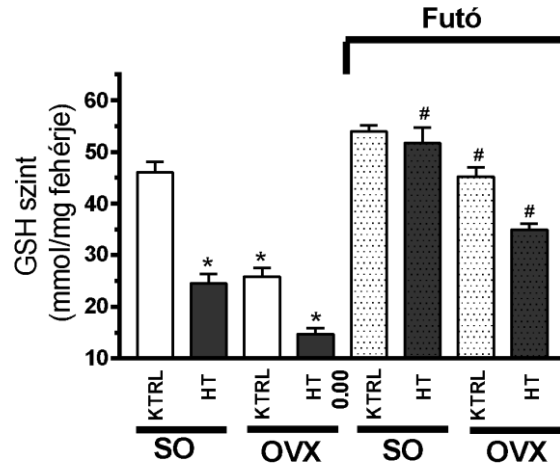
A 3-nitrotirozin szintje a myocardiumban jelentősen kisebb ($p < 0,05$) volt az ovariectomizált csoportokban a kontroll csoporthoz viszonyítva. A zsírdús diéta hatására az álműtött állatoknál is tapasztaltunk 3-NT szint csökkenést, viszont ez nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. A testmozgás jelentős mértékben növelte ($p < 0,05$) a zsírdús táppal etetett állatok (SO és OVX) 3-NT szintjét a nem futó társaikkal szemben, ezzel ellentétben az OVX-KTRL-F csoportban szignifikáns csökkenést ($p < 0,05$) észleltünk (8. Ábra).



8. Ábra. A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai a cardialis 3-nitrotirozin szintre (3-NT; pmol/mg fehérje egységben kifejezve). Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n=6-8$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között. (SO – álműtött/sham-operated; OVX – ovariectomizált; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta).

A GSH szint változásai

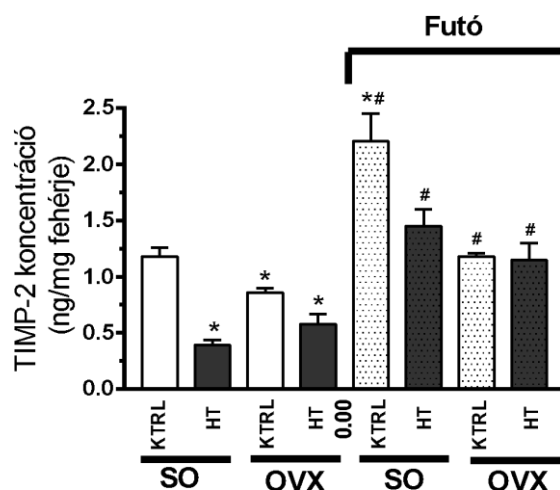
A kísérlet végpontján, spektrofotometriás módszerrel mért GSH szintek a testmozgást nem végző csoportokban (SO-HT-NF, OVX-KTRL-NF és OVX-HT-NF) jelentősen lecsökkentek ($p < 0,05$) a kontrol csoporttal szemben. A testmozgás szignifikánsan megemelte ($p < 0,05$) a GSH szinteket a nem-futó állatokhoz viszonyítva (9. Ábra).



9. ábra. A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai a cardialis GSH szintre (mmol/mg fehérje egységben kifejezve). Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n=6-8$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között. (SO – álműtött/sham-operated; OVX – ovariectomizált; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta).

A TIMP-2 szint változásai

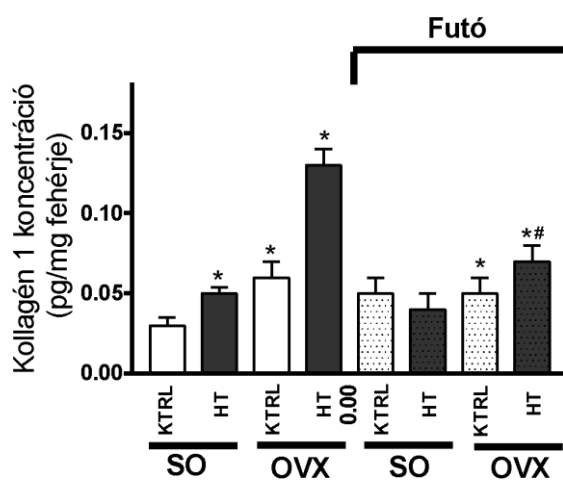
A cardialis TIMP-2 koncentráció meghatározása alapvető az MMP-TIMP rendszer myocardialis extracelluláris mátrix egyensúlyának megőrzésében játszott szerepének a meghatározásában. Eredményeink azt mutatják, hogy a zsírdús diéta és az ösztrogén hiány csökkenti ($p < 0,05$) a TIMP-2 koncentrációt a myocardiumban, viszont a testmozgás szignifikáns növekedést ($p < 0,05$) indukált mindegyik csoportban a szedentáris állatokhoz viszonyítva (10. Ábra).



10. Ábra. A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai a cardialis TIMP-2 koncentrációra (ng/mg fehérje egységben kifejezve). Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n=5-8$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között. (SO – álműtött/sham-operated; OVX – ovariectomizált; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta).

Az I-es típusú kollagén szint változásai

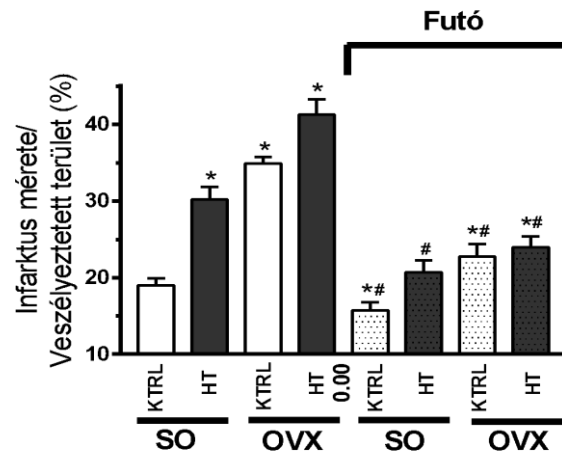
Feltételezésünk szerint a rendszeres testmozgás módosítja a fibrotikus szövet felhalmozódását a szívizomban, ezért az I-es típusú kollagén koncentrációt is megmértük, ELISA módszer alkalmazásával. Mint az várható volt, az ösztrogén hiány és a zsírdús táplálék kollagén felhalmozódást idézett elő, melyet a testmozgás képes volt szignifikánsan lecsökkenteni az OVX-HT-F csoport állatainál (11. Ábra).



11. Ábra. A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai a cardialis I-es típusú kollagén koncentrációra (pg/mg fehérje egységben kifejezve). Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n=6-9$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között. (SO – álműtött/sham-operated; OVX – ovariectomizált; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta).

A myocardialis infarctus okozta necroticus terület változásai

A zsírdús diéta önmagában is, viszont ösztrogén deplécióval társítva jelentősen megemelte a myocardialis infarctus okozta necrotikus terület mértékét ($p < 0,05$) a kontroll csoporthoz viszonyítva, mely hatásokat a rendszeres testmozgás szignifikánsan ($p < 0,05$) redukált mindegyik futó csoportban (12. Ábra).



12. Ábra. A 12 hetes testmozgás és a diéta hatásai az infarctusos terület mértékére (a veszélyeztetett terület százalékos arányában kifejezve). Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n=8-10$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között. (SO – álműtött/sham-operated; OVX – ovariectomizált; KTRL – kontroll/standard táp; HT – magas triglicerid tartalmú diéta).

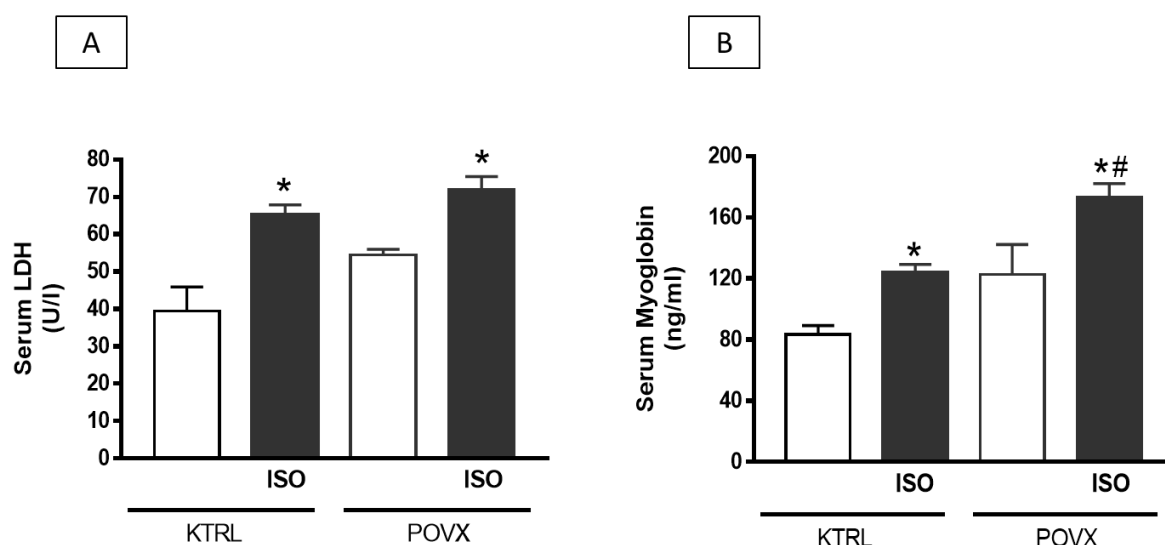
A testmozgás utókezelésként való alkalmazásának hatása farmakológiailag indukált menopausában patkány modellen

A serum östradiol szint változása

A szérum östradiol szint, melyet két triptorelin injekció beadása után határoztunk meg, jelentősen lecsökkent a POVX állatoknál: KTRL: $290,92 \pm 3,10$ ng/l vs. POVX: $160,90 \pm 2,98$ ng/l. ($p < 0,0001$)

Az ISO kezelés hatása a myocardialis infarctus markereire

A serum laktát dehidrogenáz aktivitás 20 órával az ISO kezelést követően szignifikánsan megemelkedett mind a kontroll, mind pedig a POVX csoportban (13A. Ábra). A myoglobin koncentráció az ISO kezelést követően a mindkét ISO kezelt csoportban megemelkedett, ugyanakkor az ISO-POVX csoportban az ISO-KTRL csoporthoz viszonyítva is markáns emelkedést mutatott (13B. Ábra).



13. Ábra. A: Serum LDH koncentráció 20 órával az ISO kezelés után (az eredmények ábrázolása átlag $\pm$ SE, $n = 7-14$). B: Serum myoglobin koncentráció 20 órával az ISO kezelés után (az eredmények ábrázolása átlag $\pm$ SE, $n = 4-11$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat az ISO és nem ISO kezelt csoportok között. A # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest.

Míg a 0,1 mg / kg ISO-kezelés szignifikáns mértékben növeli a GOT koncentrációkat a KTRL és a POVX csoportokban egyaránt, sem a POVX, sem az ISO nem változtatta meg a szérum GPT szinteket (2 Táblázat). A szérum ALP szignifikánsan emelkedett a POVX csoportokban,

összehasonlítva a KTRL csoportokkal, az ISO kezelés pedig tovább növelte az ALP koncentrációkat a POVX csoportokban, ellentétben a KTRL-ISO csoporttal (2 Táblázat).

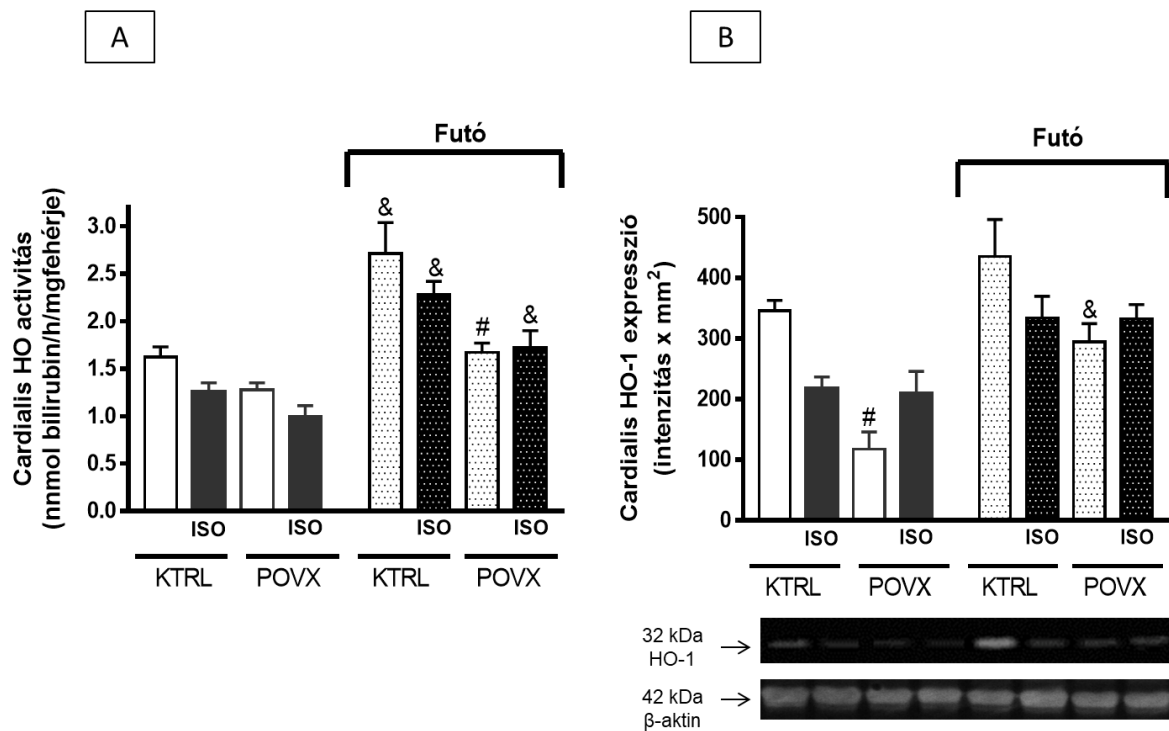
2. Táblázat. A serum GOT, GPT és ALP szintek 20 órával az ISO kezelés után. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki. A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat az ISO és nem ISO kezelt csoportok között. A # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest.

	KTRL	KTRL-ISO	POVX	POVX-ISO
GOT (U/l)	93,66 $\pm$ 2,89	130,78 $\pm$ 9,85*	97,40 $\pm$ 3,01	137,69 $\pm$ 9,97*
GPT (U/l)	36,82 $\pm$ 1,29	41,87 $\pm$ 2,28	43,11 $\pm$ 1,60	45,36 $\pm$ 1,09
ALP (U/l)	268,12 $\pm$ 15,60	244,46 $\pm$ 11,40	329,34 $\pm$ 19,34	415,28 $\pm$ 22,06*#

A HO-1 koncentráció és aktivitás változása

A testedzés antioxidáns homeosztázisra gyakorolt hatásait a cardiomyocyták HO-1 aktivitásának és koncentrációjának meghatározásával mértük fel a 6 hetes kezelési periódus végén. A HO-1 aktivitás az ISO-KTRL csoportban csökkent a negatív kontrollhoz képest. Az ISO-POVX csoportban a csökkenés viszont már szignifikáns volt a KTRL csoporthoz viszonyítva. A 6 hetes testmozgás eredményeképpen megfigyelhető a HO-1 aktivitás emelkedése minden csoportban, a nem futó csoportokkal szemben, viszont szignifikánsan magasabb értékeket a KTRL, ISO-KTRL, illetve ISO-POVX csoportokban találtunk (14A. Ábra).

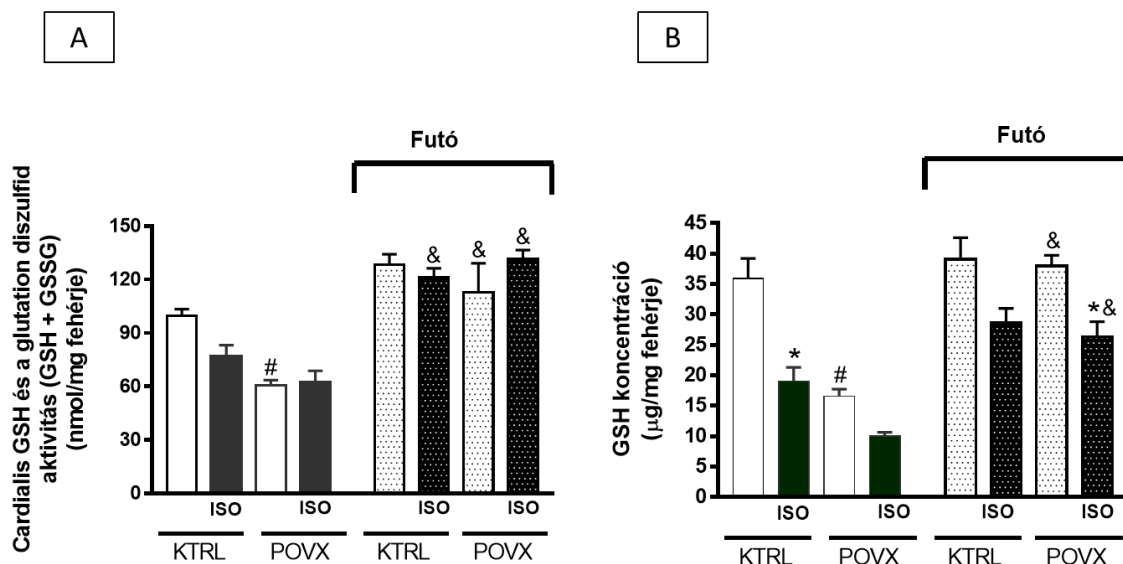
A HO-1 expressziója jelentősen lecsökkent a farmakológiailag indukált ovariectomia következtében a nem futó állatoknál a saját kontroll csoportjukhoz viszonyítva, a testmozgás azonban jelentős mértékben javította az expressziót ugyanazon csoportban a nem futó állatokkal összehasonlítva (14B. Ábra).



14. Ábra. A: Az ISO kezelés és a 6 hetes mozgás hatása a cardiac HO aktivitásra a KTRL és POVX csoportoknál. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n = 5-12$). B: Az ISO kezelés és a 6 hetes mozgás hatása a cardiac HO-1 expresszióra a KTRL és POVX csoportoknál. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n = 3-6$). A # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a & szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között.

A GSH+GSSG, illetve GSH koncentráció változásai

A kontroll állatokhoz viszonyítva a POVX és a POVX-ISO csoportok állatainál a GSH és a glutation diszulfid aktivitás (GSH+GSSG) a szívizomban szignifikánsan lecsökkent. A testmozgás eredményeként szignifikánsan javulást tapasztaltunk mind a CTRL, mind a POVX patkányok GSH szintjében, amelyeket azonban az ösztrogénhiány és az ISO kezelés csökkentett (15A. Ábra). Mindazonáltal szignifikáns összefüggést ($p = 0,0176$) találtunk az edzés és az ösztrogén státusz között.

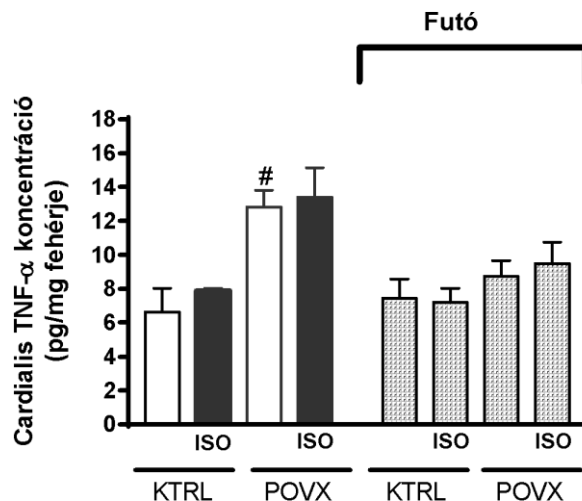


15. Ábra. A: Az ISO kezelés és a 6 hetes mozgás hatása a cardialis GSH és a glutation diszulfid aktivitásra (GSH+GSSG) a KTRL és POVX csoportokban. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n = 5-8$). B: Az ISO kezelés és a 6 hetes mozgás hatása a cardialis glutation (GSH) szintre a KTRL és POVX csoportokban. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n = 6-7$). A * szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat az ISO és nem ISO kezelt csoportok között. A # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a & szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között.

A továbbiakban meghatároztuk a GSH koncentrációját a szívizom sejtekben. Egyszeri ISO dózis hatására a GSH koncentráció lecsökkent minden ISO-kezelt csoportban, szignifikáns csökkenést viszont csak az ISO-KTRL és futó-ISO-POVX csoportokban észleltünk, összehasonlítva a nem ISO kezelt csoportokkal. További eredmény, hogy az ösztrogénhiányos állatokban az abszolút KTRL csoportba tartozó állatokhoz viszonyítva a GSH-koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt. A 6 hetes edzés javította az ösztrogénhiány okozta GSH szint változásokat, mind a POVX, mind pedig az ISO-POVX csoportokban (15B. Ábra). Eredményeink tehát egy szignifikáns interakciót mutatnak a testmozgás, az ösztrogén koncentráció és a GSH szintek között ($p = 0,0164$).

A cardialis TNF- α koncentráció változásai

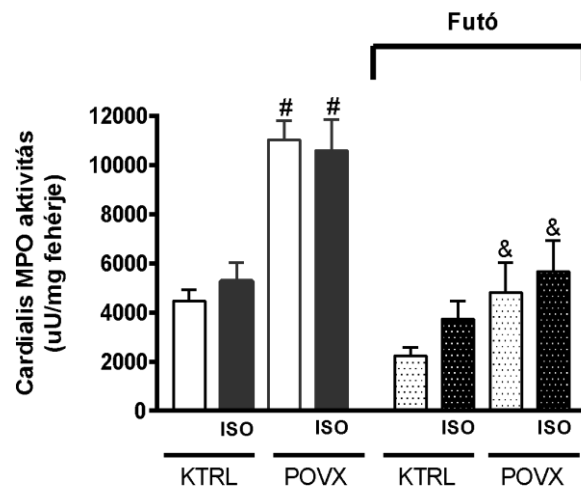
Amint az várható volt, a TNF- α koncentrációja jelentősen megemelkedett az ösztrogénhiányos állatoknál (16. Ábra), melyeket a 6 hetes edzés szignifikánsan lecsökkentett ($p = 0,011$).



16. Ábra. Az ISO kezelés és a 6 hetes mozgás hatása a cardialis TNF- α szintre a KTRL és POVX csoportokban. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n = 4-6$). A # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest.

A cardialis MPO aktivitás változásai

A kísérlet végpontján a myocardium MPO aktivitását is meghatároztuk, mely a feltételezéseinkkel megegyezően szignifikánsan magas értékeket mutatott a POVX és ISO-POVX csoportoknál a kontroll állatokkal összehasonlítva. A 6 hetes edzés azonban az MPO kóros aktivitást képes volt helyreállítani az ösztrogénhiányos állatoknál, a nem-futó társaikkal szemben (17. ábra). Eredményeink tehát bizonyítják egyrészt, hogy a testmozgás és az ösztrogén státusz is szignifikánsan befolyásolja a cardialis MPO aktivitását ($p = 0,0077$), másrészt pedig a testmozgás hatékonyságát a gyulladásos folyamatok helyreállításában (MPO aktivitás csökkenése).



17. Ábra. Az ISO kezelés és a 6 hetes mozgás hatása a cardiac MPO aktivitásra a KTRL és POVX csoportokban. Az eredményeket átlag $\pm$ SE fejeztük ki ($n = 4-7$). A # szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a kontroll csoporthoz képest; a & szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) mutat a futó és nem-futó csoportok között.

Megbeszélés

A testmozgás szívizomra gyakorolt hatásainak vizsgálata ovariectomia indukálta patkány modellen

A CV betegségek világszerte a halálozási okok első helyét foglalják el. A WHO 2016. évi adatai alapján évente 17,9 millió ember halálát okozzák a különböző CV kórképek. Számos kockázati tényező játszik szerepet a betegségek – akár korai – kialakulásában, úgymint a gyulladás, a dyslipidaemiák, az ösztrogén hiány, az antioxidáns státusz egyensúlyának változásai, a szedentáris életmód. Ezek leggyakoribb következményei a szívhypertrophia és a szívelégtelenség. Jellemző elváltozások a szívizom remodelling-je, a fibrosis, a kollagén beszűrődés, és az oxigénhiány miatti apoptosis és cardiomyocytolysis, melyek tovább súlyosbítják az említett kórképek prognózisát [226].

A fizikai aktivitás egy biztonságos nem gyógyszeres terápiás eszköz lehet a CV megbetegedések megelőzésében és kezelésében az egészségmegőrző hatásai miatt, mint például öregedés indukálta cardiomyocytá apoptosiss és a szívelégtelenség kockázatának a csökkentése, illetve a szív pumpa funkciójának javítása.

Egyre több kutatás irányul annak bizonyítására, hogy a szigorúan szabályozott ECM homeosztázis jelentős mértékben befolyásolhatja a szív működését [227, 228]. Cardialis fibrosisban jelentős ECM fehérje, elsődlegesen kollagén felhalmozódás figyelhető meg, mely nagymértékben elősegíti a cardiomyociták remodelling-jét, és ennek következtében extrém izom merevség, hypertrophia és akár akut MI alakulhat ki [229]. Az interstitialis kollagén depozitumok felhalmozódása az öregedési folyamatok [230], a myocardialis ischaemia [231], gyulladásos folyamatok [232], diabetes [233, 234] vagy hormonok [235] hatására egyaránt kialakulhat. A nemi hormonok és receptoraik jelentős szerepet játszanak az ECM fehérjék szabályozásában. Továbbá, az MMP-2, a peroxinitrit (ONOO⁻) és a glutation között megfigyelt kölcsönhatások új irány nyitnak a szív pathophysiológiájának tanulmányozásában ösztrogén deficiens állapotokban.

Következésképpen megvizsgáltuk az ösztrogén depléción indukálta kollagén felhalmozódás és a fibrosis pathomechanizmusát, mely az MMP-2 downreguláció és a szívhypertrophia révén jelentkezhetnek. Eredményeink is azt mutatják, hogy az ösztrogén hiány és a magas triglicerid tartalmú diéta szignifikánsan megemeli a cardialis kollagén és csökkentik a 3-NT, valamint a GSH koncentrációkat. Mindazonáltal bizonyítottuk, hogy a 12 hetes mérsékelt testmozgás

csökkenti a szívizom fibrosist az ovariectomizált állatoknál, feltételezhetően a GSH/3-NT és MMP-2 reguláción keresztül. Korábbi eredményeink azt is bizonyították, hogy az ovariectomia előidézte vérnyomás emelkedés ugyancsak részt vesz az említett elváltozások mechanizmusában [106, 236]. Az endogén és exogén ösztrogén antioxidáns hatása döntő szerepet játszik a vazoprotektív hatások kiváltásában, amit az is alátámaszt, hogy postmenopausás nőkben és állatokban az oxidatív stressz folyamatok fokozódnak [237, 238]. Pedram és mtsai. bizonyították, hogy az ösztrogén megakadályozza a szív remodellinget a myofibroblast, valamint a kollagén és fibronektin termelés szabályozása által, míg az ösztrogén csökkenti az ECM „turnover”-t és védelmet biztosít a cardiomyociták apoptosisa és az ösztrogén megvonás ellen, mely bal kamra hypertrophiát, kollagén lerakódást és a vasoconstrictor anyagokkal - mint angiotenzin II - szembeni érzékenység fokozódást idéz elő [239]. Eredményeink, az irodalommal összhangban, azt mutatják, hogy az ovariectomia az I. típusú kollagén felhalmozódás következtében szívizom károsodást vált ki. A fibrosis ugyancsak multifaktoriális, továbbá az ECM metabolizmus szabályozásához köthető molekuláris mechanizmusok számos jelátviteli útvonalat érintenek. Széles körben elfogadott tények, hogy a mozgáshiány, a sedentáris életmód, a keringő ösztrogén szint csökkenése, az oxidatív stressz és öregedési folyamatok közrejátszanak a kollagén mátrix túlzott felhalmozódásában és a cardialis dysfunctio progressziójában [240], azonban a testmozgás által kiváltott szívizom fibrosis csökkenés pathomechanizmusa még nem teljes mértékben tisztázott. Jelen kutatásunk az önkéntes testmozgás és a diéta MMP-2 regulációra kifejtett hatásainak vizsgálatára összpontosított. A MMP-ok és szöveti inhibitoraik mind normál, mind pedig patológiás körülmények között szabályozzák az ECM profilt, ennek értelmében a MMP-ok és a metalloproteinázok szöveti inhibitorai (TIMPs – The tissue inhibitors of metalloproteinases) közötti egyensúly határozza meg a szív remodellinget [241]. Egy korábbi tanulmányban Felix és mtsai. bizonyították, hogy a petefészek hormonok hiánya jelentős mértékben károsítja a szív morfológiáját, miközben az alacsony intenzitású aerob jellegű mozgás megakadályozza a fibrosis proliferációját. Viszont a kutatócsoport nem vizsgálta az MMP-2 regulációs mechanizmusait [242]. Kwak és mtsai. a kollagén profil változásait vizsgálták a testmozgás hatására és bizonyították a testmozgás védő hatását az életkorral összefüggő aktív MMP-k downregulációjával szemben [84].

Kutatásaink bizonyították, hogy 12 hét önkéntes testmozgás jelentősen növelte az MMP-2 aktivitást, és ezáltal védelmet biztosít a kollagén akkumulációval és a fibrosissal szemben. Az MMP-2 lebontja az ECM fehérjéket, melyek szerepet játszanak a szív remodellingben. Ezen

kívül megállapítottuk, hogy a testmozgás csökkenti az I. típusú kollagén szintet és javítja az MMMP/TIMP arányt, kialakítva ezáltal a védőhatást a szívkárosodásokkal szemben.

Jelen tanulmányunkban kimutattuk, hogy a 12 hetes testmozgás hatására az infarctusos terület szignifikánsan lecsökkent, továbbá enyhítette az ösztrogén hiány, a zsírdús diéta és az elhízással összefüggő necroticus terület mértékét ischaemia/reperfusio modellben. Számos tanulmány alátámasztja azt a tényt, hogy a klimaxos és postmenopausás időszakokban a nőknél megnövekszik a CV kockázat, beleértve a MI-t, mely elsődlegesen a fokozott oxidatív károsodáshoz és a NO biológiai hasznosulásának csökkenéséhez köthető [243, 244]. A rendszeres testmozgás egy nem farmakológiai terápiás lehetőségnek számít a CV megbetegedések prevenciójában nők és férfiak esetében egyaránt. Az infarctus mértékét minimalizálhatja a fizikai aktivitás előidézte myocardialis capillaris functio, intracellularis redox egyensúly, és NO termelés okozta endothel dysfunctio javulása [245, 246]. Almeida és mtsai. arról számoltak be, hogy a testmozgás csökkentette az egyik legjelentősebb oxidatív stressz útvonal fehérje expresszióját, ugyanakkor fokozta az antioxidáns kataláz enzim aktivitását, melyek egyaránt javították a szív funkcióit és a remodellinget ovariectomizált postinfarctusos patkányoknál [239]. Klinikai vizsgálatok is igazolták, hogy a szív fibrosis szorosan összefügg az elhízással és hozzájárul a cardialis dysfunctio kialakulásához obese nők esetében. Kosmala és mtsai. szerint pedig a bal kamra működés zavarai az MMP/TIMP rendszer változásaihoz kapcsolódnak, mely változások elősegíthetik az ECM fehérjék degradációjának csökkenését az MMP-2 downreguláció következtében elhízott nőknél [108].

Kísérleti protokollunkban a testmozgás szignifikánsan növelte az MMP-2 aktivitást és csökkentette a kollagén felhalmozódást a szívizomban az álműtött és az ovariectomizált állatoknál egyaránt. Ezáltal a testmozgás fontos profilaktikus stratégiát jelenthet a szívbetegségek megelőzésében és kezelésében. A testmozgás indukálta kollagén „turnover” és cardioprotekció mechanizmusa az MMP/TIMP profilhoz kapcsolódik és az MMP útvonal aktivációjának az eredménye. Az MMP-2 aktiválása kétféleképpen történhet, proteolitikus és nem proteolitikus módon. A 72 kDa zymogen proteolitikus aktiválása az autoinhibitor propeptid eltávolításával az aktív 64 kDa MMP-2 termelését idézi elő, vagy a peroxinitrit celluláris glutation jelenlétében előidézett poszttranszlációs módosítást követően alakul át [247]. A peroxinitrit – a szuperoxid anion és a NO terméke – MMP-2 aktiváló [247] vagy deprimáló [248, 249] kapacitása még vitatott. Rajagopalan és mtsai. megállapították, hogy a peroxinitrit fokozza a tisztítatlan MMP-2 aktivitását a simaizom sejtekben [250]. Az oxidatív stressz okozta poszttranszlációs változások az MMP-2 aktiválását idézhetik elő. Az

intracellularis glutation és peroxinitrit okozhat S-glutation termelést, konformációs változásokat, melyek az MMP aktív formájának a termelődését segítik elő [251]. A GSH egy nem enzimatis antioxiidáns a sejtekben, és a koncentrációjának csökkenése az oxidatív károsodás egyik legfontosabb markere [252]. Kísérleteinkben az ösztrogén hiány és a zsírdús táplálkozás jelentősen csökkentette a GSH koncentrációját. Más tanulmányokkal összhangban azt tapasztaltuk, hogy a 12 hetes testmozgás képes visszaállítani a GSH koncentrációját [252, 253]. A GSH, a redox homeosztázis fenntartása révén kulcsfontosságú szerepet játszik a cardialis funkciók megtartásában [86]. Frasier és mtsai. bebizonyították, hogy a fizikai aktivitás fenntartja a szív GSH raktárait és csökkenti az ischaemia indukálta szívkárosodás mértékét [254]. Azonban az MMP-k funkcionális tulajdonságainak összetettsége bizonyos korlátokat is feltételez, az MMP-2 aktiválása pedig különösen a CV patológiában nem egységes. Mindemellett más tanulmányok nem vizsgálták az életmód változtatás (ösztrogén hiány, testmozgás, diéta) szerepét az MMP-2 aktiválásában és szabályozásában.

Következtetésképpen elmondható, hogy a 12 hetes testmozgás növeli a cardialis 3-NT és GSH koncentrációkat, mely a 72 kDa MMP-2 aktiválással együttesen jelentős szerepet játszik a szív fibrosis kivédésében. Ezek az adatok összhangban vannak a korábbi eredményeinkkel, miszerint a testmozgás előidézte az MMP-2 aktivációt és az MMP/TIMP egyensúly fenntartása hozzájárul a cardioprotekcióhoz és terápiás lehetőségként is szolgálhat szív remodelling esetében.

A testmozgás postconditionálásként való alkalmazásának hatása farmakológiailag indukált menopausában patkány modellen

A CV megbetegedések vezető morbiditási és halálozási oknak tekinthetők postmenopausás nők esetében, mivel az ösztrogén hiány negatív hatásokat okoz mind az anyagcserében, mind pedig a CV funkciókban [255, 256]. A menopausa test zsíreloszlási zavarokkal, lipid és glükóz anyagcsere betegségekkel, hypertóniával, gyulladásal társul, ami a CV rendellenességek, elsődlegesen a MI kockázatát jelentősen növeli. Több kutatás bizonyította, hogy az ösztrogén hiánya káros hatást fejt ki a szív- és érrendszerre, illetve a gyulladásos státusra: csökkenti a NO biológiai hasznosulását, növeli az aorta reaktivitását, fokozza a gyulladásos reakciókat és az oxidatív stresszt, melyek összességében negatívan befolyásolják a várható élettartamot postmenopausás postinfarctusos nők esetében [257, 258].

A legtöbb preklinikai és klinikai tanulmány bizonyította, hogy a testmozgás hatásos megelőző stratégia a MI profilaxisában [87], azonban kevés vizsgálat irányult a testmozgás hatásainak vizsgálatára infarctus utáni állapotokban.

Tanulmányunk célja az önkéntes testmozgás oxidáns/antioxidáns homeosztázis, valamint a gyulladásos státus változásaira kifejtett hatásainak vizsgálata postinfarctusos állapotban. Vizsgálatainkhoz egy noninvazív állatmodellt választottunk, melyben az ösztrogén hiányt triptorelin adásával, a MI-t pedig egy dózis ISO adásával idéztük elő. A „coronaria lekötés” beavatkozással ellentétben, mely esetében a morbiditás és a mortalitás lényegesen nagyobb, az ISO indukálta MI patkánymodell esetében a CV hatások megbízhatóbbak, továbbá a mortalitás is sokkal alacsonyabb [259]. A leghatásosabb dózis meghatározásának érdekében 5 különböző dózisban – 100; 10; 1; 0,1 és 0,01 mg/kg – alkalmaztuk az ISO-t. A mortalitási adataink alapján a 0,1 mg/kg dózis bizonyult optimálisnak MI laesiók kialakítására ösztrogén deficiens nőstény állatoknál. A munkacsoportunk által alkalmazott túlélő patkány modellben a subcutan ISO kezelés jelentősen megemelte a myocardialis necrosis serum markereit, mint az LDH, myoglobin, GOT és ALP, mely eredmény számos korábbi tanulmánnyal van összhangban [259-261]. Ezen felül a myocardialis laesio kiterjedését is meghatároztuk TTC festéssel ISO-kezelt és POVX állatok szívizom mintáiban egyaránt.

Egyszeri 0,1 mg/kg ISO kezelés az ISO-KTRL csoport állatainál 15,83%-os, míg az ISO-POVX csoportnál 23,54%-os necrosist idézett elő. Napjainkban egyre több kutatás irányul egyrészt az akut ISO kezelés következményeinek tanulmányozására, és egyidejűleg különböző, potenciálisan profilaktikus hatóanyagok vizsgálatára ISO-kezelés indukálta MI-ban [260, 262,

263]. Legjobb tudomásunk szerint tanulmányunk, mely az ISO-kezelés hosszú távú hatásainak tanulmányozására, illetve a testmozgás szerepének vizsgálatára irányult noninvazív MI patkánymodellben, egyedülálló. Köztudott tény, hogy az ISO-kezelés fokozza a gyulladásos folyamatokat és aktiválja a szabadgyök képződést, következésképpen felmerül a kérdés, hogy mikor ajánlott elkezdni a fizikai aktivitást és milyen intenzitással javasolt a testmozgás végzése a MI okozta szívizom károsodás szignifikáns javulásának érdekében. Garza és mtsai. összefoglalták azokat az irodalmi adatokat, melyek igazolják a tényt, hogy a MI után azonnal elkezdett testmozgás kiterjeszti a myocardialis necrosist, a korai edzés (kevesebb, mint 1 héttel a MI után) súlyosbíthatja a bal kamra remodellinget, viszont a később elkezdett edzés (3 héttel a MI után) nem rontja a betegség prognózist.

Jelen kutatási protokollunkban a patkányok 3 héttel az ISO-kezelést követően kezdték el az önkéntes futókerék edzést. Az eredmények egyértelműen azt mutatják, hogy a testmozgás cardioprotektív hatása a HO enzim fokozott aktivitásának és expressziójának következménye KTRL és a POVX csoportokban egyaránt. A HO és termékei rendelkeznek mind rövid, mind pedig hosszú távú cardioprotektív hatásokkal. A HO a hemet biológiailag aktív metabolitokká konvertálja, mint például a szénmonoxid (CO), vas, biliverdin, mely utóbbit a citoszolikus biliverdin reduktáz bilirubinná alakítja át [264]. Az említett citoprotektív végtermékek csökkentik az apoptosist és a gyulladást, szabályozzák a vasomotoros tónust, továbbá antioxidáns és immunmoduláns tulajdonságokkal is rendelkeznek [265-267]. Miközben az ösztrogén hiány és/vagy a korai ISO-kezelés a HO enzim aktivitását és expresszióját is jelentősen lecsökkenti, a 6 hetes önkéntes edzés visszaállította az oxidáns/antioxidáns egyensúlyt. Ren és mtsai. spontán hypertóniás patkányokon végzett kísérleteikben azt tapasztalták, hogy a mérsékelt aerob szerű edzés szignifikánsan növelte a HO aktivitást és expressziót az aorta és myocardium szövetmintákban. Következésképpen az edzés indukálta HO upreguláció fokozza az endogén CO termelést és részt vesz a cGMP (ciklikus guanozin-monofoszfát) szintek szabályozásában az érfaltónus megtartásának érdekében. A HO enzim farmakológiailag aktív hatóanyagok [268, 269] vagy edzés általi aktivációja javítja a postinfarctusos cardialis funkciókat, csökkenti az apoptosist, a gyulladásos sejtes infiltrációt és az oxidatív károsodásokat [224, 270]. Wang és mtsai egér modellen bizonyították a HO overexpresszió postinfarctusos túlélést javító, továbbá bal kamra dilatációt, apoptosist, fibrosist és oxidatív károsodást csökkentő hatásait. Az oxidatív stressz károsodás fokozódása a reaktív oxigéngyökök és az antioxidáns rendszer aktivitása közötti egyensúly felbomlásának tulajdonítható. Lobo Filho és mtsai. [259] az antioxidáns enzimek, mint kataláz és GSH

koncentrációjának progresszív csökkenését figyelték meg a MI korai stádiumában. MI-ban a szuperoxid gyökök megváltoztatják az antioxidáns rendszer működését és szívizom károsodást idéznek elő. Kísérleteink során megállapítottuk, hogy az ISO beadása a szív GSH koncentrációját hosszú távon befolyásolja, csökkentve a GSH szintet a kontroll, de főként a POVX csoportokban. A HO enzimhez hasonlóan a GSH értékek is javultak a testmozgás hatására. A GSH a fehérjék redox státusának szabályozása révén védi a szívizmot az oxidatív stressz okozta károsító hatásokkal szemben [271]. Mind a GSH, mind pedig a HO útvonal jelentős antioxidáns hatásokkal rendelkezik és biztosítja a fiziológias citoprotekciót. A hem metabolizmus végtermékeként a bilirubin széles körű védelmet nyújt a lipid peroxidációval szemben, miközben a GSH elsődlegesen a vízdékony fehérjék oxidációját gátolja [272]. A fizikai aktivitás által megnövekedett antioxidáns kapacitás összefüggésbe hozható a GSH szívizomban kifejtett szabadgyök eltávolító képességével [254]. Számos tanulmány támasztja alá a HO-1 enzim szerepét az oxidáns/antioxidáns homeosztázis fenntartásában. A HO-1 enzim működésének transzkripciós szabályozásában az antioxidáns válasz kulcsfontosságú regulátora az Nrf2 (nuclear factor E2-related factor 2: nukleáris faktor eritroid eredetű 2-es faktor) fehérje. Az Nrf2 meghatározó szerepet játszik a cisztein felvétel szabályozásában, mely az oxidatív stressz elleni védelemhez vezet az intracellularis GSH és cisztein szintek megtartása révén [273]. Yu és mtsai. [274] is beszámoltak az Nrf2/HO-1 útvonal CV patológiában betöltött szerepéről. Bizonyították, hogy az Nrf2/HO-1 jelátvitel aktiválása csökkenti a necrosist, a gyulladásos és az oxidatív folyamatokat. Jelen szabályozási mechanizmus tanulmányozása átfogóbb bizonyítékokat szolgáltathat a testmozgás és annak antioxidáns hatásainak vizsgálatára irányuló jövőbeni kutatásainkhoz. Az antioxidáns hatásokon kívül a testmozgás indukálta HO-1 aktivitásfokozódás a gyulladásos folyamatokkal szemben is védelmet nyújt, továbbá a biliverdin és az endogén CO termelés növelésével indukálja a HO-1 aktivitás upregulációját. A CO gátolja a lipopoliszacharid által közvetített proinflammatorikus mediátorok – TNF- α és IL-1 β – felszabadulását, ugyanakkor az antiinflammatorikus mediátorok – IL-10 - expresszióját fokozza. Több tanulmány is bizonyította a fizikai inaktivitás és egy alacsonyabb fokú gyulladásos állapot közötti összefüggést, ami tovább fokozza az öregedéssel összefüggő betegségek kialakulásának kockázatát [223]. Kutatásainkban a POVX által kiváltott ösztrogén deficiencia idézte elő a legnagyobb mértékű válaszreakciót a TNF- α és MPO aktivitás fokozásával. A MPO a lipoproteinek oxidatív elváltozásait katalizálja és endothelialis NO-t használ el, ezáltal károsítva a CV rendszert, elsődlegesen az értágító funkciót. A MPO a gyulladás egyik korai biomarkere és jelentős szerepet játszik a CV betegségek előidézésében és progressziójában [220, 275]. Korábbi vizsgálatainkban

bizonyítottuk, hogy az ón-protoporfirin IX (SnPP) – amely a HO egyik legerősebb kompetitív gátlója – 30 µg/kg dózisú kezelés szignifikánsan megemelte a cardialis MPO aktivitást az egészséges és ösztrogénhiányos patkányoknál egyaránt [276]. Továbbá, a HO knock-out egér modell szintén bizonyította a HO-1 gyulladásban betöltött szerepét. Kapturczak és mtsai. [277] észrevették, hogy a HO-1 hiányos állatoknál fokozódik a proinflammatorikus citokinek termelése és progresszív gyulladásos folyamat alakul ki. Hat hetes futókerék edzés, feltételezhetően az antiinflammatorikus hatása révén csökkentette a szívben az MPO aktivitást és a TNF- α szintet, ezáltal mérsékelve a szívizom gyulladásos állapotát.

Következtetésképpen elmondhatjuk, hogy a hat héten át tartó önkéntes futókerék edzés javította a cardialis antioxidáns és gyulladásos státuszt az alkalmazott nem invazív MI állatmodellben. A testmozgás cardioprotektív hatásának feltételezett mechanizmusai összefüggenek a HO enzim aktivitásának és expressziójának a fokozódásával, illetve a GSH szint növekedésével, melyek a gyulladásos válaszreakciót csökkentik a szívizomban. Ebből adódóan az önkéntes testmozgás potenciális terápiás célpontot jelenthet menopausás MI-on átesett nőknél a CV szövődmények kivédésében és kezelésében.

Összefoglalás

Az első vizsgálatban a testmozgásnak a myocardiumra gyakorolt hatását vizsgáltuk petefészek-eltávolítás által kiváltott ösztrogénhiányos patkánymodellben. A tanulmány az ECM szív működésben betöltött szerepére összpontosított. A myocardialis fibrosis, amelyet a szívben a kollagén túlzott felhalmozódása jellemez, káros szívizom-átalakításhoz és diszfunkcióhoz vezethet, és az ösztrogénhiány az állapot kialakulásához hozzájáruló tényezőként azonosítható. Az eredmények azt mutatták, hogy 12 hét mérsékelt testmozgás hatékonyan csökkentette a myocardialis fibrosist petefészek-eltávolított patkányokban. Úgy tűnt, hogy az edzés szabályozza a GSH-t, a peroxinitritet és a MMP-2-t, ami megnövekedett MMP-2 aktivitáshoz vezetett, ami elősegítette az ECM fehérjék lebontását és megakadályozta a kollagén felhalmozódását. A testmozgás az infarktusos területet is csökkentette, különösen ösztrogénhiány, zsíros étrend és elhízás esetén. Ez a csökkenés a capillarisok funkciójának, az intracelluláris redox egyensúlynak és az endothel funkciónak a javulását eredményezi. Következésképpen az edzés előnyei közé tartozott az MMP-2 útvonal modulálása, az ECM fehérje egyensúly fenntartása és a szívvel kapcsolatos szövődmények elleni védelem.

A második vizsgálatban utókezelési megközelítésként az önkéntes testmozgás hatásait vizsgáltuk egy olyan patkánymodellben, amelyben triptorelin beadása által ösztrogénhiányt és ISO adásával MI-t váltottunk ki. Míg a korábbi kutatások rávilágítottak a testmozgásnak a MI-ra gyakorolt megelőző hatásaira, ez a tanulmány a post-infarctusos állapotot javító hatásokra összpontosított. Az ISO kezelés gyulladást és szabadgyökképződést váltott ki, ami kérdéseket vet fel a post-infarctusos edzés időzítésével és intenzitásával kapcsolatban. A vizsgálat megállapította, hogy a testmozgás korai megkezdése ronthatja a bal kamra remodellinget, viszont a későbbi megkezdés nem rontotta az állapotot. A testmozgás gyulladáscsökkentő hatást is kifejtett a myocardialis MPO és a TNF-alfa szintjének csökkentése révén. Összefoglalva, az akaratlagos testmozgásnak cardioprotektív hatásai voltak egy farmakológiailag indukált menopausalis és post-infarctusos patkánymodellben. A lehetséges pathomechanizmusok között a megnövekedett HO enzimaktivitás, az emelkedett GSH-szint és a myocardialis gyulladás csökkentése kiemelt jelentőségű.

Összefoglalásként elmondható, hogy a testmozgás alapvető tényező a CV megbetegedések kockázatának csökkentésében a postmenopausás nők körében. Előnyök széles skáláját kínálja, beleértve a CV rendszer szerkezeti és funkcionális fejlesztését, a hormonális szabályozást, a gyulladáskezelést és az anyagcsere javulását. Azonban meg kell jegyezni, hogy létfontosságú a

testmozgást a hormonális változásokhoz igazítani a postmenopausás nők szív- és érrendszeri funkcióinak, valamint általános egészségének megőrzése érdekében.

Summary

In the first study we explored the impact of exercise on the myocardium in a rat model with ovariectomy-induced estrogen deficiency. The study focused on the role of extracellular matrix in heart function. Cardiac fibrosis, characterized by excessive collagen build-up in the heart, can lead to detrimental cardiac remodelling and dysfunction, and estrogen deficiency was identified as a contributing factor to this condition. The results showed that 12 weeks of moderate exercise effectively reduced myocardial fibrosis in ovariectomized rats. Exercise appeared to regulate glutathione, peroxynitrite, and matrix metalloproteinase-2, leading to increased MMP-2 activity, which helped degrade ECM proteins and prevent collagen accumulation. Exercise also reduced infarcted tissue, especially in cases of estrogen deficiency, high-fat diets, and obesity. This reduction was associated with improved capillary function, intracellular redox balance, and endothelial function. Consequently, exercise's benefits included modulating the MMP-2 pathway, maintaining ECM protein balance, and protecting against heart-related complications.

In the second study, researchers examined the effects of voluntary exercise as a post-treatment approach in a rat model with estrogen deficiency induced by triptorelin administration and MI induced by ISO administration. While previous research highlighted exercise's preventive effects on MI, this study focused on its post-infarction benefits. ISO treatment induced inflammation and free radical formation, raising questions about the timing and intensity of exercise post-infarction. The study found that initiating exercise early might worsen left ventricular remodeling, but starting it later did not exacerbate the condition. Exercise also demonstrated anti-inflammatory effects by reducing myocardial MPO activity and TNF- α levels. In summary, voluntary exercise had cardioprotective effects in a pharmacologically induced menopausal rat model with MI. The mechanisms included increased HO enzyme activity, elevated GSH levels, and reduced inflammation in the myocardium.

In summary, exercise is a cornerstone in reducing CV disease risk among postmenopausal women. It offers a wide range of advantages, spanning structural and functional enhancements in the CV system, hormonal regulation, inflammation management, and metabolic improvements. Tailoring exercise to accommodate hormonal changes is vital for preserving vascular function and overall health in postmenopausal women.

Irodalomjegyzék

1. Hill, K., *The demography of menopause*. Maturitas, 1996. **23**(2): p. 113-27.
2. Sussman, M., et al., *Prevalence of menopausal symptoms among mid-life women: findings from electronic medical records*. BMC Womens Health, 2015. **15**: p. 58.
3. Woods, N.F. and E.S. Mitchell, *Symptoms during the perimenopause: prevalence, severity, trajectory, and significance in women's lives*. Am J Med, 2005. **118 Suppl 12B**: p. 14-24.
4. Barrett-Connor, E. and C.A. Stuenkel, *Hormone replacement therapy (HRT)—risks and benefits*. International Journal of Epidemiology, 2001. **30**(3): p. 423-426.
5. Nelson, H.D., *Menopause*. Lancet, 2008. **371**(9614): p. 760-70.
6. Podfigurna-Stopa, A., et al., *Premature ovarian insufficiency: the context of long-term effects*. J Endocrinol Invest, 2016. **39**(9): p. 983-90.
7. Takahashi, T.A. and K.M. Johnson, *Menopause*. Med Clin North Am, 2015. **99**(3): p. 521-34.
8. Gold, E.B., et al., *Factors associated with age at natural menopause in a multiethnic sample of midlife women*. Am J Epidemiol, 2001. **153**(9): p. 865-74.
9. Melby, M.K., M. Lock, and P. Kaufert, *Culture and symptom reporting at menopause*. Hum Reprod Update, 2005. **11**(5): p. 495-512.
10. Harlow, S.D., et al., *Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging*. Fertil Steril, 2012. **97**(4): p. 843-51.
11. Politi, M.C., M.D. Schleinitz, and N.F. Col, *Revisiting the duration of vasomotor symptoms of menopause: a meta-analysis*. J Gen Intern Med, 2008. **23**(9): p. 1507-13.
12. Biglia, N., et al., *Vasomotor symptoms in menopause: a biomarker of cardiovascular disease risk and other chronic diseases?* Climacteric, 2017. **20**(4): p. 306-312.
13. Franco, O.H., et al., *Vasomotor symptoms in women and cardiovascular risk markers: Systematic review and meta-analysis*. Maturitas, 2015. **81**(3): p. 353-61.
14. Muka, T., et al., *Association of Vasomotor and Other Menopausal Symptoms with Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis*. PLoS One, 2016. **11**(6): p. e0157417.
15. Newson, L., *Menopause and cardiovascular disease*. Post Reprod Health, 2018. **24**(1): p. 44-49.
16. Avis, N.E., S. Brockwell, and A. Colvin, *A universal menopausal syndrome?* Am J Med, 2005. **118 Suppl 12B**: p. 37-46.
17. Santoro, N., C.N. Epperson, and S.B. Mathews, *Menopausal Symptoms and Their Management*. Endocrinol Metab Clin North Am, 2015. **44**(3): p. 497-515.
18. Cohen, L.S., et al., *Risk for new onset of depression during the menopausal transition: the Harvard study of moods and cycles*. Arch Gen Psychiatry, 2006. **63**(4): p. 385-90.
19. Freeman, E.W., et al., *Symptoms associated with menopausal transition and reproductive hormones in midlife women*. Obstet Gynecol, 2007. **110**(2 Pt 1): p. 230-40.
20. El Khoudary, S.R. and R.C. Thurston, *Cardiovascular Implications of the Menopause Transition: Endogenous Sex Hormones and Vasomotor Symptoms*. Obstet Gynecol Clin North Am, 2018. **45**(4): p. 641-661.
21. Aydogan, B. and S. Mirkin, *The utility of measuring anti-Müllerian hormone in predicting menopause*. Climacteric, 2015. **18**(6): p. 777-89.
22. Honour, J.W., *Biochemistry of the menopause*. Ann Clin Biochem, 2018. **55**(1): p. 18-33.

23. Kruszyńska, A. and J. Słowińska-Srzednicka, *Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause*. Prz Menopauzalny, 2017. **16**(2): p. 47-50.
24. Soares, A.G., et al., *Longitudinal changes in reproductive hormones through the menopause transition in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC)*. Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 21258.
25. Petersen, R.C., et al., *Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review)*. Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology, 2001. **56**(9): p. 1133-42.
26. Woods, N.F., E.S. Mitchell, and C. Adams, *Memory functioning among midlife women: observations from the Seattle Midlife Women's Health Study*. Menopause, 2000. **7**(4): p. 257-65.
27. Dumas, J., et al., *Estradiol interacts with the cholinergic system to affect verbal memory in postmenopausal women: evidence for the critical period hypothesis*. Horm Behav, 2008. **53**(1): p. 159-69.
28. Gibbs, R.B., *Estrogen therapy and cognition: a review of the cholinergic hypothesis*. Endocr Rev, 2010. **31**(2): p. 224-53.
29. Maki, P.M. and E. Sundermann, *Hormone therapy and cognitive function*. Hum Reprod Update, 2009. **15**(6): p. 667-81.
30. Zandi, P.P., et al., *Hormone replacement therapy and incidence of Alzheimer disease in older women: the Cache County Study*. Jama, 2002. **288**(17): p. 2123-9.
31. *The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society*. Menopause, 2017. **24**(7): p. 728-753.
32. Salpeter, S.R., et al., *Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women*. Diabetes Obes Metab, 2006. **8**(5): p. 538-54.
33. Toth, M.J., et al., *Menopause-related changes in body fat distribution*. Ann N Y Acad Sci, 2000. **904**: p. 502-6.
34. Edwards, B.J. and J. Li, *Endocrinology of menopause*. Periodontol 2000, 2013. **61**(1): p. 177-94.
35. Ruggiero, R.J. and F.E. Likis, *Estrogen: physiology, pharmacology, and formulations for replacement therapy*. J Midwifery Womens Health, 2002. **47**(3): p. 130-138.
36. Li, L. and Z. Wang, *Ovarian Aging and Osteoporosis*. Adv Exp Med Biol, 2018. **1086**: p. 199-215.
37. Mattison, D.R., et al., *Pharmaco- and toxicokinetics of selected exogenous and endogenous estrogens: a review of the data and identification of knowledge gaps*. Crit Rev Toxicol, 2014. **44**(8): p. 696-724.
38. Simm, P.J., et al., *Estrogens and growth*. Pediatr Endocrinol Rev, 2008. **6**(1): p. 32-41.
39. Knopp, R.H. and X. Zhu, *Multiple beneficial effects of estrogen on lipoprotein metabolism*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(12): p. 3952-4.
40. Palmisano, B.T., L. Zhu, and J.M. Stafford, *Role of Estrogens in the Regulation of Liver Lipid Metabolism*. Adv Exp Med Biol, 2017. **1043**: p. 227-256.
41. Chakrabarti, S., O. Lekontseva, and S.T. Davidge, *Estrogen is a modulator of vascular inflammation*. IUBMB Life, 2008. **60**(6): p. 376-82.
42. Fisman, E.Z., A. Tenenbaum, and A. Pines, *Systemic hypertension in postmenopausal women: a clinical approach*. Curr Hypertens Rep, 2002. **4**(6): p. 464-70.
43. Harrison-Bernard, L.M. and L. Raij, *Postmenopausal hypertension*. Curr Hypertens Rep, 2000. **2**(2): p. 202-7.
44. Kim, J.K. and E.R. Levin, *Estrogen signaling in the cardiovascular system*. Nucl Recept Signal, 2006. **4**: p. e013.

45. Strehlow, K., et al., *Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen*. Circ Res, 2003. **93**(2): p. 170-7.
46. Zhang, Y. and S.T. Davidge, *Estrogen replacement increases coronary artery distensibility in ovariectomized rats*. Can J Physiol Pharmacol, 1999. **77**(1): p. 75-8.
47. Wessler, S., *Estrogen-associated thromboembolism*. Ann Epidemiol, 1992. **2**(4): p. 439-43.
48. Eriksen, E.F., et al., *Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells*. Science, 1988. **241**(4861): p. 84-6.
49. Okazaki, R., et al., *Estrogen promotes early osteoblast differentiation and inhibits adipocyte differentiation in mouse bone marrow stromal cell lines that express estrogen receptor (ER) alpha or beta*. Endocrinology, 2002. **143**(6): p. 2349-56.
50. Vedi, S. and J.E. Compston, *The effects of long-term hormone replacement therapy on bone remodeling in postmenopausal women*. Bone, 1996. **19**(5): p. 535-9.
51. Wahab, M., et al., *The effect of long-term oestradiol implantation on bone mineral density in postmenopausal women who have undergone hysterectomy and bilateral oophorectomy*. Br J Obstet Gynaecol, 1997. **104**(6): p. 728-31.
52. Anand, S.S., et al., *Risk factors for myocardial infarction in women and men: insights from the INTERHEART study*. Eur Heart J, 2008. **29**(7): p. 932-40.
53. Atsma, F., et al., *Postmenopausal status and early menopause as independent risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis*. Menopause, 2006. **13**(2): p. 265-79.
54. Lisabeth, L.D., et al., *Age at natural menopause and risk of ischemic stroke: the Framingham heart study*. Stroke, 2009. **40**(4): p. 1044-9.
55. Shufelt, C.L., et al., *Sex-Specific Physiology and Cardiovascular Disease*. Adv Exp Med Biol, 2018. **1065**: p. 433-454.
56. Silveira, J.S., et al., *Hot flashes: emerging cardiovascular risk factors in recent and late postmenopause and their association with higher blood pressure*. Menopause, 2016. **23**(8): p. 846-55.
57. Collins, P., et al., *Cardiovascular risk assessment in women - an update*. Climacteric, 2016. **19**(4): p. 329-36.
58. Harrison-Bernard, L.M., I.H. Schulman, and L. Raij, *Postovariectomy hypertension is linked to increased renal AT1 receptor and salt sensitivity*. Hypertension, 2003. **42**(6): p. 1157-63.
59. Mendelsohn, M.E., *Protective effects of estrogen on the cardiovascular system*. Am J Cardiol, 2002. **89**(12a): p. 12E-17E; discussion 17E-18E.
60. Derby, C.A., et al., *Lipid changes during the menopause transition in relation to age and weight: the Study of Women's Health Across the Nation*. Am J Epidemiol, 2009. **169**(11): p. 1352-61.
61. El Khoudary, S.R., *HDL and the menopause*. Curr Opin Lipidol, 2017. **28**(4): p. 328-336.
62. Matthews, K.A., et al., *Are changes in cardiovascular disease risk factors in midlife women due to chronological aging or to the menopausal transition?* J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(25): p. 2366-73.
63. Castelli, W.P., et al., *Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study*. Jama, 1986. **256**(20): p. 2835-8.
64. El Khoudary, S.R., et al., *Increase HDL-C level over the menopausal transition is associated with greater atherosclerotic progression*. J Clin Lipidol, 2016. **10**(4): p. 962-969.
65. Liu, P., et al., *Blocking FSH induces thermogenic adipose tissue and reduces body fat*. Nature, 2017. **546**(7656): p. 107-112.

66. Golden, S.H., et al., *Endogenous sex hormones and glucose tolerance status in postmenopausal women*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(4): p. 1289-95.
67. Lambrinoudaki, I., et al., *Endogenous sex hormones and risk factors for atherosclerosis in healthy Greek postmenopausal women*. Eur J Endocrinol, 2006. **154**(6): p. 907-16.
68. Wang, N., et al., *Follicle-stimulating hormone associates with prediabetes and diabetes in postmenopausal women*. Acta Diabetol, 2016. **53**(2): p. 227-36.
69. Charalampopoulos, D., et al., *Age at menarche and risks of all-cause and cardiovascular death: a systematic review and meta-analysis*. Am J Epidemiol, 2014. **180**(1): p. 29-40.
70. Agatista, P.K., et al., *Impairment of endothelial function in women with a history of preeclampsia: an indicator of cardiovascular risk*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004. **286**(4): p. H1389-93.
71. Ahmed, R., et al., *Pre-eclampsia and future cardiovascular risk among women: a review*. J Am Coll Cardiol, 2014. **63**(18): p. 1815-22.
72. Dahlgren, E., et al., *Polycystic ovary syndrome and risk for myocardial infarction. Evaluated from a risk factor model based on a prospective population study of women*. Acta Obstet Gynecol Scand, 1992. **71**(8): p. 599-604.
73. Noussitou, P., et al., *Gestational diabetes mellitus and the risk of metabolic syndrome: a population-based study in Lausanne, Switzerland*. Diabetes Metab, 2005. **31**(4 Pt 1): p. 361-9.
74. Rao, R., et al., *Gestational diabetes, preeclampsia and cytokine release: similarities and differences in endothelial cell function*. Adv Exp Med Biol, 2014. **814**: p. 69-75.
75. Lehman, S.J., et al., *Peri-aortic fat, cardiovascular disease risk factors, and aortic calcification: the Framingham Heart Study*. Atherosclerosis, 2010. **210**(2): p. 656-61.
76. Rosito, G.A., et al., *Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample: the Framingham Heart Study*. Circulation, 2008. **117**(5): p. 605-13.
77. El Khoudary, S.R., et al., *Postmenopausal Women With Greater Paracardial Fat Have More Coronary Artery Calcification Than Premenopausal Women: The Study of Women's Health Across the Nation (SWAN) Cardiovascular Fat Ancillary Study*. J Am Heart Assoc, 2017. **6**(2).
78. El Khoudary, S.R., et al., *Cardiovascular Fat, Menopause, and Sex Hormones in Women: The SWAN Cardiovascular Fat Ancillary Study*. J Clin Endocrinol Metab, 2015. **100**(9): p. 3304-12.
79. LaCroix, A.Z., et al., *Health outcomes after stopping conjugated equine estrogens among postmenopausal women with prior hysterectomy: a randomized controlled trial*. Jama, 2011. **305**(13): p. 1305-14.
80. Williams, J.K., et al., *A comparison of tibolone and hormone replacement therapy on coronary artery and myocardial function in ovariectomized atherosclerotic monkeys*. Menopause, 2002. **9**(1): p. 41-51.
81. Golob, A.L. and M.B. Laya, *Osteoporosis: screening, prevention, and management*. Med Clin North Am, 2015. **99**(3): p. 587-606.
82. Manolagas, S.C. and R.L. Jilka, *Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis*. N Engl J Med, 1995. **332**(5): p. 305-11.
83. Shifren, J.L. and M.L. Gass, *The North American Menopause Society recommendations for clinical care of midlife women*. Menopause, 2014. **21**(10): p. 1038-62.
84. Kwak, H.-B., et al., *Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart*. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 2011. **25**(3): p. 1106-1117.

85. Marques, C.M., et al., *Exercise training attenuates cardiovascular adverse remodeling in adult ovariectomized spontaneously hypertensive rats*. Menopause, 2006. **13**(1): p. 87-95.
86. Campos, J.C., K.M. Gomes, and J.C. Ferreira, *Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases*. Food Chem Toxicol, 2013. **62**: p. 107-19.
87. Pósa, A., et al., *Exercise Training and Calorie Restriction Influence the Metabolic Parameters in Ovariectomized Female Rats*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2015. **2015**: p. 787063.
88. Piano, M.R., *Alcohol's Effects on the Cardiovascular System*. Alcohol Res, 2017. **38**(2): p. 219-241.
89. Mancia, G., et al., *2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC)*. J Hypertens, 2013. **31**(7): p. 1281-357.
90. Maclaran, K. and J.C. Stevenson, *Primary prevention of cardiovascular disease with HRT*. Womens Health (Lond), 2012. **8**(1): p. 63-74.
91. Williams, B., et al., *2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension*. Eur Heart J, 2018. **39**(33): p. 3021-3104.
92. Dawson-Hughes, B., et al., *Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older*. N Engl J Med, 1997. **337**(10): p. 670-6.
93. Marcus, R., et al., *Antiresorptive treatment of postmenopausal osteoporosis: comparison of study designs and outcomes in large clinical trials with fracture as an endpoint*. Endocr Rev, 2002. **23**(1): p. 16-37.
94. Recker, R.R., et al., *Correcting calcium nutritional deficiency prevents spine fractures in elderly women*. J Bone Miner Res, 1996. **11**(12): p. 1961-6.
95. Riis, B., K. Thomsen, and C. Christiansen, *Does calcium supplementation prevent postmenopausal bone loss? A double-blind, controlled clinical study*. N Engl J Med, 1987. **316**(4): p. 173-7.
96. Warensjö, E., et al., *Dietary calcium intake and risk of fracture and osteoporosis: prospective longitudinal cohort study*. Bmj, 2011. **342**: p. d1473.
97. Bravo, G., et al., *Impact of a 12-month exercise program on the physical and psychological health of osteopenic women*. J Am Geriatr Soc, 1996. **44**(7): p. 756-62.
98. Wallace, B.A. and R.G. Cumming, *Systematic review of randomized trials of the effect of exercise on bone mass in pre- and postmenopausal women*. Calcif Tissue Int, 2000. **67**(1): p. 10-8.
99. Zizic, T.M., *Pharmacologic prevention of osteoporotic fractures*. Am Fam Physician, 2004. **70**(7): p. 1293-300.
100. Delmas, P.D., *Treatment of postmenopausal osteoporosis*. Lancet, 2002. **359**(9322): p. 2018-26.
101. Lufkin, E.G., et al., *Treatment of postmenopausal osteoporosis with transdermal estrogen*. Ann Intern Med, 1992. **117**(1): p. 1-9.
102. Pageau, S.C., *Denosumab*. MAbs, 2009. **1**(3): p. 210-5.
103. Marcus, R., et al., *The skeletal response to teriparatide is largely independent of age, initial bone mineral density, and prevalent vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis*. J Bone Miner Res, 2003. **18**(1): p. 18-23.
104. Neer, R.M., et al., *Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis*. N Engl J Med, 2001. **344**(19): p. 1434-41.

105. Kandasamy, S. and S.S. Anand, *Cardiovascular Disease Among Women From Vulnerable Populations: A Review*. Can J Cardiol, 2018. **34**(4): p. 450-457.
106. Pósa, A., et al., *Sexual dimorphism of cardiovascular ischemia susceptibility is mediated by heme oxygenase*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2013. **2013**: p. 521563-521563.
107. Salerni, S., et al., *The different role of sex hormones on female cardiovascular physiology and function: not only oestrogens*. Eur J Clin Invest, 2015. **45**(6): p. 634-45.
108. Kosmala, W., et al., *Matrix metalloproteinases 2 and 9 and their tissue inhibitors 1 and 2 in premenopausal obese women: relationship to cardiac function*. Int J Obes (Lond), 2008. **32**(5): p. 763-71.
109. Pedram, A., et al., *Estrogen receptor-beta prevents cardiac fibrosis*. Molecular endocrinology (Baltimore, Md.), 2010. **24**(11): p. 2152-2165.
110. uuml, et al., *Effects of Menopause on the Myocardial Velocities and Myocardial Performance Index*. Circulation Journal, 2007. **71**(11): p. 1728-1733.
111. Ruban, L.A., et al., *EFFICACY OF RECREATIONAL PHYSICAL ACTIVITY FOR PERIMENOPAUSAL WOMEN WITH HYPERTENSION ONSET*. Wiad Lek, 2022. **75**(2): p. 499-503.
112. Johnson, A., L. Roberts, and G. Elkins, *Complementary and Alternative Medicine for Menopause*. J Evid Based Integr Med, 2019. **24**: p. 2515690x19829380.
113. Maki, P.M., et al., *Guidelines for the evaluation and treatment of perimenopausal depression: summary and recommendations*. Menopause, 2018. **25**(10): p. 1069-1085.
114. Virani, S.S., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulation, 2021. **143**(8): p. e254-e743.
115. Dipa, M.I., et al., *Evaluation of the Changes of Blood Pressure and Serum Calcium Level In Postmenopausal Women*. Mymensingh Med J, 2020. **29**(3): p. 509-515.
116. Mieczkowska, J., et al., *Relationship between Serum Levels of Metalloproteinase-8 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 and Exercise Test Results in Postmenopausal Women*. Dis Markers, 2016. **2016**: p. 7169531.
117. El Khoudary, S.R., et al., *Menopause Transition and Cardiovascular Disease Risk: Implications for Timing of Early Prevention: A Scientific Statement From the American Heart Association*. Circulation, 2020. **142**(25): p. e506-e532.
118. Mosca, L., E. Barrett-Connor, and N.K. Wenger, *Sex/gender differences in cardiovascular disease prevention: what a difference a decade makes*. Circulation, 2011. **124**(19): p. 2145-54.
119. Honigberg, M., et al., *AGE AT MENOPAUSE AND LEFT VENTRICULAR REMODELING BY CARDIAC MAGNETIC RESONANCE IMAGING*. Journal of the American College of Cardiology, 2020. **75**: p. 1990.
120. Maslov, P.Z., et al., *Is Cardiac Diastolic Dysfunction a Part of Post-Menopausal Syndrome?* JACC Heart Fail, 2019. **7**(3): p. 192-203.
121. Ying, W., et al., *Associations Between Menopause, Cardiac Remodeling, and Diastolic Function: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study*. Circulation, 2019. **140**(Suppl_1): p. A12378-A12378.
122. Arnal, J.F., et al., *Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(9): p. 4108-13.
123. Mostarda, C., et al., *Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats*. Clinics (Sao Paulo), 2012. **67**(7): p. 815-20.

124. Flores, L.J., et al., *Effects of exercise training on autonomic dysfunction management in an experimental model of menopause and myocardial infarction*. Menopause, 2010. **17**(4): p. 712-7.
125. Irigoyen, M.C., et al., *Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats*. Hypertension, 2005. **46**(4): p. 998-1003.
126. Machi, J.F., et al., *Impact of aging on cardiac function in a female rat model of menopause: role of autonomic control, inflammation, and oxidative stress*. Clin Interv Aging, 2016. **11**: p. 341-50.
127. Moreau, K.L. and K.L. Hildreth, *Vascular Aging across the Menopause Transition in Healthy Women*. Adv Vasc Med, 2014. **2014**.
128. Lakatta, E.G., *Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging*. Circulation, 2003. **107**(3): p. 490-7.
129. Ziemann, S.J., V. Melenovsky, and D.A. Kass, *Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(5): p. 932-43.
130. Agmon, M., et al., *The Effects of EnhanceFitness (EF) Training on Dual-Task Walking in Older Adults*. Journal of Applied Gerontology, 2012. **34**.
131. Belza, B., et al., *The Effects of a Community-Based Exercise Program on Function and Health in Older Adults: The EnhanceFitness Program*. Journal of Applied Gerontology - J APPL GERONTOL, 2006. **25**: p. 291-306.
132. Snowden, M., et al., *Effect of exercise on cognitive performance in community-dwelling older adults: review of intervention trials and recommendations for public health practice and research*. J Am Geriatr Soc, 2011. **59**(4): p. 704-16.
133. Nelson, H.D., et al., *Management of menopause-related symptoms*. Evid Rep Technol Assess (Summ), 2005(120): p. 1-6.
134. Kazemina, M., et al., *The Effect of Exercise on the Older Adult's Blood Pressure Suffering Hypertension: Systematic Review and Meta-Analysis on Clinical Trial Studies*. Int J Hypertens, 2020. **2020**: p. 2786120.
135. Conti, F.F., et al., *Positive effect of combined exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2015. **309**(12): p. R1532-9.
136. de Oliveira Brito-Monzani, J., et al., *Aerobic or resistance training improves autonomic control of circulation in oophorectomized rats with cardiometabolic dysfunctions: Impact on renal oxidative stress*. Exp Gerontol, 2021. **145**: p. 111181.
137. Sanches, I.C., et al., *Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause*. Menopause (New York, N.Y.), 2012. **19**(5): p. 562-568.
138. Khalid, T., E. Nesreen, and O. Ramadhan, *Effects of exercise training on postmenopausal hypertension: implications on nitric oxide levels*. Med J Malaysia, 2013. **68**(6): p. 459-64.
139. Kim, J.W. and D.Y. Kim, *Effects of aerobic exercise training on serum sex hormone binding globulin, body fat index, and metabolic syndrome factors in obese postmenopausal women*. Metab Syndr Relat Disord, 2012. **10**(6): p. 452-7.
140. Swift, D.L., et al., *The effect of different doses of aerobic exercise training on endothelial function in postmenopausal women with elevated blood pressure: results from the DREW study*. Br J Sports Med, 2012. **46**(10): p. 753-8.
141. Benjamin, E.J., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulation, 2018. **137**(12): p. e67-e492.

142. Shaw, B.S., et al., *Anthropometric and cardiovascular responses to hypertrophic resistance training in postmenopausal women*. *Menopause*, 2016. **23**(11): p. 1176-1181.
143. Terra, D.F., et al., *Reduction of arterial pressure and double product at rest after resistance exercise training in elderly hypertensive women*. *Arq Bras Cardiol*, 2008. **91**(5): p. 299-305.
144. Nunes, P.R., et al., *Effect of resistance training on muscular strength and indicators of abdominal adiposity, metabolic risk, and inflammation in postmenopausal women: controlled and randomized clinical trial of efficacy of training volume*. *Age (Dordr)*, 2016. **38**(2): p. 40.
145. Zhang, Y., et al., *Muscle mass reduction, low muscle strength, and their combination are associated with arterial stiffness in community-dwelling elderly population: the Wakayama Study*. *J Hum Hypertens*, 2021. **35**(5): p. 446-454.
146. Moreau, K.L., et al., *Regular exercise, hormone replacement therapy and the age-related decline in carotid arterial compliance in healthy women*. *Cardiovasc Res*, 2003. **57**(3): p. 861-8.
147. Moreau, K.L., et al., *Oxidative stress explains differences in large elastic artery compliance between sedentary and habitually exercising postmenopausal women*. *Menopause*, 2006. **13**(6): p. 951-8.
148. Tanaka, H., C.A. DeSouza, and D.R. Seals, *Absence of age-related increase in central arterial stiffness in physically active women*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998. **18**(1): p. 127-32.
149. Gregorio-Arenas, E., et al., *The associations between physical fitness and cardiometabolic risk and body-size phenotypes in perimenopausal women*. *Maturitas*, 2016. **92**: p. 162-167.
150. Chang, K.V., et al., *Reduced flexibility associated with metabolic syndrome in community-dwelling elders*. *PLoS One*, 2015. **10**(1): p. e0117167.
151. Loaiza-Betancur, A.F., et al., *The effect of exercise training on blood pressure in menopause and postmenopausal women: A systematic review of randomized controlled trials*. *Maturitas*, 2021. **149**: p. 40-55.
152. Ammar, T., *Effects of aerobic exercise on blood pressure and lipids in overweight hypertensive postmenopausal women*. *J Exerc Rehabil*, 2015. **11**(3): p. 145-50.
153. Jarrete, A.P., et al., *Influence of aerobic exercise training on cardiovascular and endocrine-inflammatory biomarkers in hypertensive postmenopausal women*. *J Clin Transl Endocrinol*, 2014. **1**(3): p. 108-114.
154. Zaros, P.R., et al., *Effect of 6-months of physical exercise on the nitrate/nitrite levels in hypertensive postmenopausal women*. *BMC Womens Health*, 2009. **9**: p. 17.
155. Pekas, E.J., et al., *Habitual Combined Exercise Protects against Age-Associated Decline in Vascular Function and Lipid Profiles in Elderly Postmenopausal Women*. *Int J Environ Res Public Health*, 2020. **17**(11).
156. da Palma, R.K., et al., *Resistance or aerobic training decreases blood pressure and improves cardiovascular autonomic control and oxidative stress in hypertensive menopausal rats*. *J Appl Physiol (1985)*, 2016. **121**(4): p. 1032-1038.
157. Eguchi, Y., et al., *Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study*. *J Gastroenterol*, 2012. **47**(5): p. 586-95.
158. Orsatti, F.L., et al., *Association between anthropometric indicators of body fat and metabolic risk markers in post-menopausal women*. *Gynecol Endocrinol*, 2010. **26**(1): p. 16-22.
159. Petri Nahas, E.A., et al., *Metabolic syndrome and its associated risk factors in Brazilian postmenopausal women*. *Climacteric*, 2009. **12**(5): p. 431-8.

160. Zhang, C., et al., *Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: sixteen years of follow-up in US women*. *Circulation*, 2008. **117**(13): p. 1658-67.
161. Lopes, D.P.S., et al., *Regular physical activity reduces the proinflammatory response in older women with diabetes and hypertension in the postmenopausal phase*. *Exp Gerontol*, 2021. **152**: p. 111449.
162. Fernandes, T., et al., *Aerobic exercise training promotes physiological cardiac remodeling involving a set of microRNAs*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015. **309**(4): p. H543-52.
163. Song, M.S., et al., *Effects of nordic walking on body composition, muscle strength, and lipid profile in elderly women*. *Asian Nurs Res (Korean Soc Nurs Sci)*, 2013. **7**(1): p. 1-7.
164. Haddock, B.L. and L.D. Wilkin, *Resistance training volume and post exercise energy expenditure*. *Int J Sports Med*, 2006. **27**(2): p. 143-8.
165. Phillips, W.T. and J.R. Ziuraitis, *Energy cost of single-set resistance training in older adults*. *J Strength Cond Res*, 2004. **18**(3): p. 606-9.
166. Willey, K.A. and M.A. Singh, *Battling insulin resistance in elderly obese people with type 2 diabetes: bring on the heavy weights*. *Diabetes Care*, 2003. **26**(5): p. 1580-8.
167. Sigal, R.J., et al., *Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial*. *Ann Intern Med*, 2007. **147**(6): p. 357-69.
168. Jamurtas, A.Z., et al., *A single bout of downhill running transiently increases HOMA-IR without altering adipokine response in healthy adult women*. *Eur J Appl Physiol*, 2013. **113**(12): p. 2925-32.
169. Elliott, K.J., C. Sale, and N.T. Cable, *Effects of resistance training and detraining on muscle strength and blood lipid profiles in postmenopausal women*. *Br J Sports Med*, 2002. **36**(5): p. 340-4.
170. Reis, J.G., et al., *Do muscle strengthening exercises improve performance in the 6-minute walk test in postmenopausal women?* *Rev Bras Fisioter*, 2012. **16**(3): p. 236-40.
171. Stengel, S.V., et al., *Power training is more effective than strength training for maintaining bone mineral density in postmenopausal women*. *J Appl Physiol* (1985), 2005. **99**(1): p. 181-8.
172. Roig, M., et al., *The effects of eccentric versus concentric resistance training on muscle strength and mass in healthy adults: a systematic review with meta-analysis*. *Br J Sports Med*, 2009. **43**(8): p. 556-68.
173. Gurka, M.J., et al., *An examination of sex and racial/ethnic differences in the metabolic syndrome among adults: a confirmatory factor analysis and a resulting continuous severity score*. *Metabolism*, 2014. **63**(2): p. 218-25.
174. DeBoer, M.D., S.L. Filipp, and M.J. Gurka, *Use of a Metabolic Syndrome Severity Z Score to Track Risk During Treatment of Prediabetes: An Analysis of the Diabetes Prevention Program*. *Diabetes Care*, 2018. **41**(11): p. 2421-2430.
175. Artero, E.G., et al., *Effects of muscular strength on cardiovascular risk factors and prognosis*. *J Cardiopulm Rehabil Prev*, 2012. **32**(6): p. 351-8.
176. Kruse, N.T. and B.W. Scheuermann, *Cardiovascular Responses to Skeletal Muscle Stretching: "Stretching" the Truth or a New Exercise Paradigm for Cardiovascular Medicine?* *Sports Med*, 2017. **47**(12): p. 2507-2520.
177. Lee, D.C., et al., *Mortality trends in the general population: the importance of cardiorespiratory fitness*. *J Psychopharmacol*, 2010. **24**(4 Suppl): p. 27-35.
178. Perk, J., et al., *European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012)*. *The Fifth Joint Task Force of the European Society of*

- Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Eur Heart J, 2012. 33(13): p. 1635-701.*
179. Choquette, S., et al., *Effects of soya isoflavones and exercise on body composition and clinical risk factors of cardiovascular diseases in overweight postmenopausal women: a 6-month double-blind controlled trial. Br J Nutr, 2011. 105(8): p. 1199-209.*
 180. Di Blasio, A., et al., *Effects of patterns of walking training on metabolic health of untrained postmenopausal women. J Aging Phys Act, 2014. 22(4): p. 482-9.*
 181. Di Blasio, A., et al., *Walking training and cortisol to DHEA-S ratio in postmenopause: An intervention study. Women Health, 2018. 58(4): p. 387-402.*
 182. Figueroa, A., et al., *Effects of hypocaloric diet, low-intensity resistance exercise with slow movement, or both on aortic hemodynamics and muscle mass in obese postmenopausal women. Menopause, 2013. 20(9): p. 967-72.*
 183. Izzicupo, P., et al., *Aerobic Training Improves Angiogenic Potential Independently of Vascular Endothelial Growth Factor Modifications in Postmenopausal Women. Front Endocrinol (Lausanne), 2017. 8: p. 363.*
 184. Villecco, A.S., et al., *High blood pressure and 'ischaemic' ECG patterns in climacteric women. Maturitas, 1985. 7(2): p. 89-97.*
 185. Villecco, A.S., et al., *Non-invasive 24-hr monitoring of high blood pressure in climacteric outpatients. Maturitas, 1987. 9(3): p. 267-74.*
 186. Zouhal, H., et al., *Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. Sports Med, 2008. 38(5): p. 401-23.*
 187. Lee, S.H., et al., *Taekwondo training reduces blood catecholamine levels and arterial stiffness in postmenopausal women with stage-2 hypertension: randomized clinical trial. Clin Exp Hypertens, 2019. 41(7): p. 675-681.*
 188. Villecco, A.S., et al., *Plasma catecholamines in pre- and in postmenopausal women with mild to moderate essential hypertension. J Hum Hypertens, 1997. 11(3): p. 157-62.*
 189. Zaydun, G., et al., *Menopause is an independent factor augmenting the age-related increase in arterial stiffness in the early postmenopausal phase. Atherosclerosis, 2006. 184(1): p. 137-42.*
 190. Fahs, C.A., et al., *Muscular strength is inversely associated with aortic stiffness in young men. Med Sci Sports Exerc, 2010. 42(9): p. 1619-24.*
 191. Maslow, A.L., et al., *Muscular strength and incident hypertension in normotensive and prehypertensive men. Med Sci Sports Exerc, 2010. 42(2): p. 288-95.*
 192. Pons van Dijk, G., et al., *Taekwondo training improves balance in volunteers over 40. Front Aging Neurosci, 2013. 5: p. 10.*
 193. Seo, M.W., et al., *Effect of 8 weeks of pre-season training on body composition, physical fitness, anaerobic capacity, and isokinetic muscle strength in male and female collegiate taekwondo athletes. J Exerc Rehabil, 2015. 11(2): p. 101-7.*
 194. Guthold, R., et al., *Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1·9 million participants. Lancet Glob Health, 2018. 6(10): p. e1077-e1086.*
 195. Sternfeld, B. and S. Dugan, *Physical activity and health during the menopausal transition. Obstet Gynecol Clin North Am, 2011. 38(3): p. 537-66.*
 196. Dogra, S., et al., *Sedentary time in older men and women: an international consensus statement and research priorities. Br J Sports Med, 2017. 51(21): p. 1526-1532.*
 197. Rivera-Torres, S., T.D. Fahey, and M.A. Rivera, *Adherence to Exercise Programs in Older Adults: Informative Report. Gerontol Geriatr Med, 2019. 5: p. 2333721418823604.*

198. Hawley-Hague, H., et al., *Review of how we should define (and measure) adherence in studies examining older adults' participation in exercise classes*. BMJ Open, 2016. **6**(6): p. e011560.
199. Adami, P.E., et al., *The role of physical activity in the prevention and treatment of chronic diseases*. Clin Ter, 2010. **161**(6): p. 537-41.
200. Milanović, Z., et al., *Age-related decrease in physical activity and functional fitness among elderly men and women*. Clin Interv Aging, 2013. **8**: p. 549-56.
201. Beavers, K.M., et al., *Independent and combined effects of physical activity and weight loss on inflammatory biomarkers in overweight and obese older adults*. J Am Geriatr Soc, 2013. **61**(7): p. 1089-94.
202. Bull, F.C., et al., *World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour*. Br J Sports Med, 2020. **54**(24): p. 1451-1462.
203. Davidson, L.E., et al., *Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults: a randomized controlled trial*. Arch Intern Med, 2009. **169**(2): p. 122-31.
204. Friedenreich, C.M., et al., *Effects of a High vs Moderate Volume of Aerobic Exercise on Adiposity Outcomes in Postmenopausal Women: A Randomized Clinical Trial*. JAMA Oncol, 2015. **1**(6): p. 766-76.
205. Lera Orsatti, F., et al., *Effects of resistance training frequency on body composition and metabolics and inflammatory markers in overweight postmenopausal women*. J Sports Med Phys Fitness, 2014. **54**(3): p. 317-25.
206. Slentz, C.A., et al., *Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2011. **301**(5): p. E1033-9.
207. Kelley, D.E., *Skeletal muscle fat oxidation: timing and flexibility are everything*. J Clin Invest, 2005. **115**(7): p. 1699-702.
208. Wisløff, U., et al., *Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity*. Science, 2005. **307**(5708): p. 418-20.
209. Nimmo, M.A., et al., *The effect of physical activity on mediators of inflammation*. Diabetes Obes Metab, 2013. **15 Suppl 3**: p. 51-60.
210. Sidney, S., et al., *Recent Trends in Cardiovascular Mortality in the United States and Public Health Goals*. JAMA Cardiol, 2016. **1**(5): p. 594-9.
211. Regitz-Zagrosek, V., et al., *Gender in cardiovascular diseases: impact on clinical manifestations, management, and outcomes*. Eur Heart J, 2016. **37**(1): p. 24-34.
212. Louis, X.L., et al., *Are the cardioprotective effects of the phytoestrogen resveratrol sex-dependent? (1)*. Can J Physiol Pharmacol, 2019. **97**(6): p. 503-514.
213. Anagnostis, P., et al., *Early menopause is associated with increased risk of arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis*. Maturitas, 2020. **135**: p. 74-79.
214. Gast, G.C., et al., *Menopausal complaints are associated with cardiovascular risk factors*. Hypertension, 2008. **51**(6): p. 1492-8.
215. Sohrabji, F., A. Okoreeh, and A. Panta, *Sex hormones and stroke: Beyond estrogens*. Horm Behav, 2019. **111**: p. 87-95.
216. Anagnostis, P., et al., *Menopause symptom management in women with dyslipidemias: An EMAS clinical guide*. Maturitas, 2020. **135**: p. 82-88.
217. Mumusoglu, S. and B.O. Yildiz, *Metabolic Syndrome During Menopause*. Curr Vasc Pharmacol, 2019. **17**(6): p. 595-603.
218. Nappi, R.E., et al., *Menopause: a cardiometabolic transition*. Lancet Diabetes Endocrinol, 2022. **10**(6): p. 442-456.
219. Dosi, R., et al., *Cardiovascular disease and menopause*. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR, 2014. **8**(2): p. 62-64.

220. Olza, J., et al., *Myeloperoxidase is an early biomarker of inflammation and cardiovascular risk in prepubertal obese children*. Diabetes Care, 2012. **35**(11): p. 2373-6.
221. Ren, C., et al., *The effect of moderate-intensity exercise on the expression of HO-1 mRNA and activity of HO in cardiac and vascular smooth muscle of spontaneously hypertensive rats*. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2015. **94**(4): p. 448-454.
222. Rienks, M., et al., *Myocardial extracellular matrix: an ever-changing and diverse entity*. Circ Res, 2014. **114**(5): p. 872-88.
223. Pósa, A., et al., *Endogenous Estrogen-Mediated Heme Oxygenase Regulation in Experimental Menopause*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2015. **2015**: p. 429713.
224. Pósa, A., et al., *Cardioprotective Effects of Voluntary Exercise in a Rat Model: Role of Matrix Metalloproteinase-2*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2015. **2015**: p. 876805.
225. Szabó, R., et al., *Role of Exercise-Induced Cardiac Remodeling in Ovariectomized Female Rats*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018. **2018**: p. 6709742.
226. Scott, J., *Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease*. Current Opinion in Genetics & Development, 2004. **14**(3): p. 271-279.
227. Kong, P., P. Christia, and N.G. Frangogiannis, *The pathogenesis of cardiac fibrosis*. Cell Mol Life Sci, 2014. **71**(4): p. 549-74.
228. Souders, C.A., S.L.K. Bowers, and T.A. Baudino, *Cardiac fibroblast: the renaissance cell*. Circulation research, 2009. **105**(12): p. 1164-1176.
229. Fan, D., et al., *Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease*. Fibrogenesis Tissue Repair, 2012. **5**(1): p. 15.
230. Horn, M.A. and A.W. Trafford, *Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling*. Journal of molecular and cellular cardiology, 2016. **93**: p. 175-185.
231. Brower, G.L., et al., *The relationship between myocardial extracellular matrix remodeling and ventricular function*. Eur J Cardiothorac Surg, 2006. **30**(4): p. 604-10.
232. Kania, G., P. Blyszczuk, and U. Eriksson, *Mechanisms of cardiac fibrosis in inflammatory heart disease*. Trends Cardiovasc Med, 2009. **19**(8): p. 247-52.
233. Li, C.-j., et al., *Cardiac fibrosis and dysfunction in experimental diabetic cardiomyopathy are ameliorated by alpha-lipoic acid*. Cardiovascular Diabetology, 2012. **11**(1): p. 73.
234. Russo, I. and N.G. Frangogiannis, *Diabetes-associated cardiac fibrosis: Cellular effectors, molecular mechanisms and therapeutic opportunities*. Journal of molecular and cellular cardiology, 2016. **90**: p. 84-93.
235. Bhupathy, P., C.D. Haines, and L.A. Leinwand, *Influence of sex hormones and phytoestrogens on heart disease in men and women*. Women's health (London, England), 2010. **6**(1): p. 77-95.
236. Pósa, A., I. Pávó, and C. Varga, *Heme oxygenase contributes to estradiol and raloxifene-induced vasorelaxation in estrogen deficiency*. International journal of cardiology, 2015. **189**: p. 252-254.
237. Lee, Y.-M., et al., *Oxidative stress induces vascular heme oxygenase-1 expression in ovariectomized rats*. Free Radical Biology and Medicine, 2005. **39**(1): p. 108-117.
238. Signorelli, S.S., et al., *Duration of menopause and behavior of malondialdehyde, lipids, lipoproteins and carotid wall artery intima-media thickness*. Maturitas, 2001. **39**(1): p. 39-42.

239. Almeida, S.A., et al., *Exercise training reduces cardiac dysfunction and remodeling in ovariectomized rats submitted to myocardial infarction*. PLoS One, 2014. **9**(12): p. e115970.
240. Cavalera, M., J. Wang, and N.G. Frangogiannis, *Obesity, metabolic dysfunction, and cardiac fibrosis: pathophysiological pathways, molecular mechanisms, and therapeutic opportunities*. Transl Res, 2014. **164**(4): p. 323-35.
241. Kwak, H.-B., *Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart*. Journal of exercise rehabilitation, 2013. **9**(3): p. 338-347.
242. Felix, A.C.S., et al., *Aerobic physical training increases contractile response and reduces cardiac fibrosis in rats subjected to early ovarian hormone deprivation*. Journal of Applied Physiology, 2015. **118**(10): p. 1276-1285.
243. Lejsková, M., et al., *Natural postmenopause is associated with an increase in combined cardiovascular risk factors*. Physiol Res, 2012. **61**(6): p. 587-96.
244. Yung, L.M., et al., *Inhibition of renin-angiotensin system reverses endothelial dysfunction and oxidative stress in estrogen deficient rats*. PLoS One, 2011. **6**(3): p. e17437.
245. Braga, V.A.V.N., et al., *Aerobic Exercise Training Prevents the Onset of Endothelial Dysfunction via Increased Nitric Oxide Bioavailability and Reduced Reactive Oxygen Species in an Experimental Model of Menopause*. PloS one, 2015. **10**(4): p. e0125388-e0125388.
246. Park, J.H., et al., *Voluntary running exercise attenuates the progression of endothelial dysfunction and arterial calcification in ovariectomized rats*. Acta Physiol (Oxf), 2008. **193**(1): p. 47-55.
247. Jacob-Ferreira, A.L., et al., *Phosphorylation status of 72 kDa MMP-2 determines its structure and activity in response to peroxynitrite*. PloS one, 2013. **8**(8): p. e71794-e71794.
248. Kupai, K., et al., *Cholesterol diet-induced hyperlipidemia impairs the cardioprotective effect of postconditioning: role of peroxynitrite*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2009. **297**(5): p. H1729-H1735.
249. Owens, M.W., et al., *Effects of reactive metabolites of oxygen and nitrogen on gelatinase A activity*. Am J Physiol, 1997. **273**(2 Pt 1): p. L445-50.
250. Rajagopalan, S., et al., *Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability*. J Clin Invest, 1996. **98**(11): p. 2572-9.
251. Schulz, R., *Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2007. **47**: p. 211-42.
252. Emami, S.R., et al., *Impact of eight weeks endurance training on biochemical parameters and obesity-induced oxidative stress in high fat diet-fed rats*. Journal of exercise nutrition & biochemistry, 2016. **20**(1): p. 29-35.
253. Ansari, J.A., et al., *Effect of rosuvastatin on obesity-induced cardiac oxidative stress in Wistar rats--a preliminary study*. Indian J Exp Biol, 2012. **50**(3): p. 216-22.
254. Frasier, C.R., et al., *Short-term exercise preserves myocardial glutathione and decreases arrhythmias after thiol oxidation and ischemia in isolated rat hearts*. J Appl Physiol (1985), 2011. **111**(6): p. 1751-9.
255. Fioretti, F., et al., *Menopause and risk of non-fatal acute myocardial infarction: an Italian case-control study and a review of the literature*. Hum Reprod, 2000. **15**(3): p. 599-603.
256. Rosano, G.M.C., et al., *Menopause and cardiovascular disease: the evidence*. Climacteric, 2007. **10**(sup1): p. 19-24.

257. Bianchi, P.R., et al., *Myocardial infarction increases reactivity to phenylephrine in isolated aortic rings of ovariectomized rats*. Life Sci, 2006. **78**(8): p. 875-81.
258. Sun, Y., *Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors*. Cardiovascular Research, 2008. **81**(3): p. 482-490.
259. Lobo Filho, H.G., et al., *Experimental model of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats*. Rev Bras Cir Cardiovasc, 2011. **26**(3): p. 469-76.
260. Ganesan, B., et al., *Antioxidant defense of betaine against isoprenaline-induced myocardial infarction in rats*. Mol Biol Rep, 2010. **37**(3): p. 1319-27.
261. Liu, Y.T., et al., *The metabolic disturbances of isoproterenol induced myocardial infarction in rats based on a tissue targeted metabonomics*. Mol Biosyst, 2013. **9**(11): p. 2823-34.
262. Goyal, S.N., et al., *Protective Effects of Cardamom in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats*. Int J Mol Sci, 2015. **16**(11): p. 27457-69.
263. Murugesan, M., R. Revathi, and V. Manju, *Cardioprotective effect of fenugreek on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats*. Indian journal of pharmacology, 2011. **43**(5): p. 516-519.
264. Lakkisto, P., et al., *The heme oxygenase inducer hemin protects against cardiac dysfunction and ventricular fibrillation in ischaemic/reperfused rat hearts: role of connexin 43*. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation, 2009. **69**(2): p. 209-218.
265. Abraham, N.G. and A. Kappas, *Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase*. Pharmacol Rev, 2008. **60**(1): p. 79-127.
266. Andreadou, I., et al., *The role of gasotransmitters NO, H₂S and CO in myocardial ischaemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning and remote conditioning*. Br J Pharmacol, 2015. **172**(6): p. 1587-606.
267. Haines, D.D., et al., *Role of haeme oxygenase-1 in resolution of oxidative stress-related pathologies: focus on cardiovascular, lung, neurological and kidney disorders*. Acta Physiol (Oxf), 2012. **204**(4): p. 487-501.
268. Czompa, A., et al., *Aged (Black) versus Raw Garlic against Ischemia/Reperfusion-Induced Cardiac Complications*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(4): p. 1017.
269. Csepanyi, E., et al., *The Effects of Long-Term, Low- and High-Dose Beta-Carotene Treatment in Zucker Diabetic Fatty Rats: The Role of HO-1*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(4): p. 1132.
270. Vulapalli, S.R., et al., *Cardioselective overexpression of HO-1 prevents I/R-induced cardiac dysfunction and apoptosis*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2002. **283**(2): p. H688-H694.
271. Stanely Mainzen Prince, P., H. Priscilla, and P.T. Devika, *Gallic acid prevents lysosomal damage in isoproterenol induced cardiotoxicity in Wistar rats*. European Journal of Pharmacology, 2009. **615**(1): p. 139-143.
272. Sedlak, T.W., et al., *Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009. **106**(13): p. 5171.
273. Ishii, T. and G.E. Mann, *Redox status in mammalian cells and stem cells during culture in vitro: Critical roles of Nrf2 and cystine transporter activity in the maintenance of redox balance*. Redox Biology, 2014. **2**: p. 786-794.
274. Yu, H., et al., *Triptolide Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injuries in Rats by Inducing the Activation of Nrf2/HO-1 Defense Pathway*. Cardiovascular Toxicology, 2016. **16**(4): p. 325-335.

- 275. Loria, V., et al., *Myeloperoxidase: A New Biomarker of Inflammation in Ischemic Heart Disease and Acute Coronary Syndromes*. Mediators of Inflammation, 2008. **2008**: p. 135625.
- 276. Posa, A., et al., *Cardioprotective Effect of Selective Estrogen Receptor Modulator Raloxifene Are Mediated by Heme Oxygenase in Estrogen-Deficient Rat*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017. **2017**: p. 2176749.
- 277. Kapturczak, M.H., et al., *Heme oxygenase-1 modulates early inflammatory responses: evidence from the heme oxygenase-1-deficient mouse*. Am J Pathol, 2004. **165**(3): p. 1045-53.

Tárgyszavak

1. cikk: ösztrogén hiány, myocardialis infarctus, hem-oxigenáz, gyulladás, testmozgás
2. cikk: ovariectomia, magas triglicerid tartalmú diéta, extracellularis mátrix, mátrix metalloproteináz-2



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/473/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Karácsonyi Zoltán

Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Szabó, R., Börzsei, D., **Karácsonyi, Z.**, Gesztelyi, R., Nemes, K., Magyariné Berkó, A., Veszelka, M., Török, S., Kupai, K., Varga, C., Juhász, B., Pósa, A.: Postconditioning like effect of exercise- New paradigm in experimental menopause.
Am. J. Physiol.-Heart Circul. Physiol. 316 (2), H400-H407, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00485.2018>
IF: 3.864
2. Szabó, R.*, **Karácsonyi, Z.***, Börzsei, D., Juhász, B., Al, a. A., Török, S., Magyariné Berkó, A., Takács, I., Kupai, K., Varga, C., Pósa, A.: Role of Exercise-Induced Cardiac Remodeling in Ovariectomized Female Rats.
Ox. Med. Cell. Longevity. 2018, 1-9, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2018/6709742>
* These authors contributed equally to this work.
IF: 4.868

További közlemények

3. **Karácsonyi, Z.**, Erdei, T. D.: A gyógyszerészeti gondozás lehetőségei az ortopédiai gyakorlatban.
Eü. Innov. Szle. 2 (1), 35-47, 2023.
4. Börzsei, D., Priks, D., Szabó, R., Bombicz, M., **Karácsonyi, Z.**, Puskás, L. G., Fehér, L. Z., Radák, Z., Kupai, K., Magyariné Berkó, A., Varga, C., Juhász, B., Pósa, A.: Exercise mitigated sex-based differences in aging: from genetic alterations to heart performance.
Am. J. Physiol.-Heart Circul. Physiol. 320 (2), 854-866, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00643.2020>
IF: 5.125





5. Juhász, T., Matta, C., Somogyi, C., Katona, É., Takács, R. Á., Soha, R. F., Szabó, I. A., Cserháti, C., Szödy, R., **Karácsonyi, Z.**, Bakó, É., Gergely, P., Zákány, R.: Mechanical loading stimulates chondrogenesis via the PKA/CREB-Sox9 and PP2A pathways in chicken micromass cultures.
Cell. Signal. 26 (3), 468-482, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.12.001>
IF: 4.315
6. **Karácsonyi, Z.**, Gáspár, L., Csernátó, Z.: Protézisnyak törésének különleges megoldása.
Magyar Traum. Ort. Kézs. Plaszt. Seb. 53 (4), 343-346, 2010.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 18,172

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
8,732**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.10.24.



Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Szilvássy Zoltán Intézetvezető egyetemi tanárnak és egyetemünk rektorának, hogy biztosította számomra a kutatás feltételeit a DE Laki Kálmán Doktori Iskola keretein belül.

Köszönettel tartozom témavezetőimnek Dr. Pósa Anikó egyetemi docensnek és Prof. Dr. Juhász Béla egyetemi tanárnak, hogy PhD hallgatójuknak fogadtak és a közös munkánk során biztosított magas szintű szakmai útmutatásért, akiknek bölcs tanácsaira, gondolatébresztő meglátásaira és folytonos támogatására mindig számíthattam kutatómunkám során.

Köszönettel tartozom 2023. október 8-án elhunyt Prof. Dr. Csernátorny Zoltán Lajos egyetemi tanárnak, a Debreceni Egyetem Ortopédiai és Traumatológiai Klinika volt Igazgatójának, hogy az általa vezetett intézményben gyakorolhattam a hivatásom, továbbá biztosította számomra a lehetőséget tudományos munkám elvégzéséhez. Hálás köszönet egykori és jelenlegi munkatársaimnak, hogy biztosították a kiváló munkahelyi légkört, ami nagymértékben járult hozzá a disszertáció létrejöttéhez.

Nem fejezhetem ki eléggé hálámat Drága Családomnak és Barátaimnak a határtalan támogatásukért, türelmükért és szeretetükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm az SZTE, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék valamennyi munkatársának, valamint a Debreceni Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársainak a segítséget.