

# Wpływ zastosowanych gestagenów w ciągłej hormonalnej terapii zastępczej na wydzielanie insulinotropowego peptydu zależnego od glukozy i peptydu glukagonopodobnego 1 u kobiet po menopauzie

## *Influence of gestagens used in hormonal replacement therapy on the secretion of GIP, GLP-1 in postmenopausal women*

Iwona Rogatko, Tomasz Milewicz, Józef Krzysiek, Krystyna Sztefko

Zakład Biochemii Klinicznej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński, *Collegium Medicum* w Krakowie; kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Krystyna Sztefko

Przeгляд Menopauzalny 2010; 6: 397–401

### Streszczenie

**Cel pracy:** Ocena wpływu hormonalnej terapii zastępczej na wydzielanie insulinotropowego peptydu zależnego od glukozy (*glucose-dependent insulinotropic peptide* – GIP) i peptydu glukagonopodobnego 1 (*glukagon like-peptide-1* – GLP-1) w zależności od rodzaju zastosowanego gestagenu u kobiet po menopauzie.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 105 kobiet po menopauzie (średnia wieku  $59,0 \pm 3,4$  roku). Grupa I – 32 pacjentki, które otrzymywały 17- $\beta$ -estradiol przezskórną z doustną suplementacją dydrogesteronem. Grupa II – 30 pacjentek otrzymywała doustnie: 17- $\beta$ -estradiol i dydrogesteron. Grupa III – 15 kobiet suplementowanych przezskórną 17- $\beta$ -estradiolem i doustnie medroksyprogesteronem. Grupa IV – 10 pacjentek otrzymujących doustnie 17- $\beta$ -estradiol i noretisteron. Krew pobierano do probówek z EDTA i aprotyniną. U wszystkich kobiet wykonywano oznaczenia GIP, GLP-1 przed wprowadzeniem leczenia i po 6 mies. od zastosowania hormonalnej terapii zastępczej (HTZ). Insulinotropowy peptyd zależny od glukozy i peptyd GLP-1 oznaczane na czczo i 60 min po posiłku.

**Wyniki:** W grupach I i II po wprowadzeniu HTZ stężenia GIP i GLP-1 zarówno przed posiłkiem, jak i po posiłku uległy zmniejszeniu. W grupie III GIP na czczo i po posiłku uległ nieznacznemu zmniejszeniu, natomiast GLP-1 pozostawał na niezmiennym poziomie. W grupie IV nie odnotowano zmian w stężeniach GIP i GLP-1 przed wprowadzeniem HTZ i po jej wprowadzeniu.

**Wniosek:** Zmniejszenie stężenia hormonów inkretynowych osi jelitowo-trzustkowej (GIP, GLP-1) zależy nie tylko od rodzaju zastosowanego schematu leczenia (terapia transdermalna, doustna), ale również od rodzaju zastosowanego gestagenu w HTZ.

**Słowa kluczowe:** kobiety po menopauzie, 17- $\beta$ -estradiol, dydrogesteron, medroksyprogesteron, noretisteron.

### Summary

**Aim of the study:** To evaluate GIP and GLP-1 secretion in postmenopausal women on the HRT in relation to gestagen used.

**Material and method:** 105 postmenopausal women (mean age  $59.0 \pm 3.4$  years) were included in the study. Group I ( $n = 32$ ) consisted of women treated with oral dydrogesterone and transdermal 17- $\beta$ -estradiol. Group II ( $n = 30$ ) was treated with 17- $\beta$ -estradiol and dydrogesterone orally. Group III ( $n = 15$ ) received 17- $\beta$ -estradiol transdermally and medroxyprogesterone orally. Women from group IV ( $n = 10$ ) received 17- $\beta$ -estradiol and noretisterone orally. Blood was taken twice – before and 60 min. after the meal - to the chilled tubes with EDTA and aprotinin. Such a protocol was used before the HRT began and in the 6<sup>th</sup> month of the HRT.

**Results:** The HRT resulted in diminished plasma concentration of GIP and GLP-1 in both group I and II – before and after the meal ( $p < 0.05$ ). In group III the same tendency in GIP levels was observed but the differences were not statistically significant. The GLP-1 concentrations were not affected by HRT, as well as GIP and GLP-1 levels in group IV.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Iwona Rogatko, Zakład Biochemii Klinicznej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego *Collegium Medicum*, ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków, e-mail: iwonarogatko@poczta.onet.pl

**Conclusion:** The plasma concentration of incretins (GIP and GLP-1) depends on the route of HRT delivery and on the kind of gestagen used.

**Key words:** postmenopausal women, 17- $\beta$ -estradiol, dydrogesterone, medroxyprogesterone, noretisterone.

## Wstęp

Pojęcie osi jelitowo-trzustkowej zostało zdefiniowane w latach 60. XX w. jako zespół sygnałów pochodzących z jelita, które mogą pobudzać, hamować lub modulować wydzielanie insuliny z komórek  $\beta$  wysepek Langerhansa trzustki [1, 2]. Głównymi peptydami jelitowymi zaliczanymi do tej osi są: insulinotropowy peptyd zależny od glukozy (*glucose-dependent insulinotropic peptide* – GIP), peptyd o immunoreaktywności podobnej do glukagonu 1 (*glukagon like-peptide-1* – GLP-1), gastryna, sekretyna, cholecystokinina, motylina, enkefaliny, substancja P. Hormony te nasilają wydzielanie insuliny przez komórki  $\beta$  trzustki, hamując jednocześnie sekrecję glukagonu, spowalniają proces opróżniania żołądka i hamują apetyt [3, 4].

Insulinotropowy peptyd zależny od glukozy jest syntetyzowany i wydzielany przez komórki K zlokalizowane w śluzówce dwunastnicy i jelita [5]. Hormon ten wpływa na gospodarkę węglowodanową, a także na metabolizm kwasów tłuszczowych poprzez bezpośrednie pobudzanie lipazy lipoproteinowej w adipocytach [6, 7]. Peptyd glukanopodobny wydzielany jest przez komórki L jelita cienkiego w zależności od rodzaju spożywanego pokarmu, a głównie od ilości glukozy, wolnych kwasów tłuszczowych i aminokwasów [8]. W krążeniu GLP-1 występuje w dwóch formach molekularnych [GLP-1 (7–36) i GLP-1 (7–37)], które są aktywne biologicznie [9, 10]. Insulinotropowy peptyd zależny od glukozy i GLP-1 są odpowiedzialne za 50–70% odpowiedzi insulinowej na posiłek, odgrywają istotną rolę w regulacji homeostazy glukozy u osób zdrowych i, jak się przypuszcza, są odpowiedzialne za powstawanie cukrzycy typu 2 [11, 12].

Menopauza jest fizjologicznym stanem wygasania czynności jajników, co prowadzi do zmniejszenia stężenia hormonów płciowych, głównie estrogenów, ale też i gestagenów. Powstałe w tym czasie niedobory hormonalne powodują wiele niekorzystnych zmian w organizmie kobiety, które mogą przejawiać się m.in. zwiększoną zapadalnością na chorobę niedokrwienną serca, utratą tkanki kostnej czy hiperinsulinizmem [13]. Dodatkowo bardzo często zmniejszenie stężenia hormonów sterydowych powiązane jest z występowaniem szeregu objawów neurovegetatywnych i psychoemocjonalnych [14]. Aby poprawić komfort życia kobiet w okresie menopauzy, w wielu przypadkach, gdy nie występują wyraźne przeciwwskazania, wprowadza się suplementację w postaci hormonalnej terapii zastępczej (HTZ). Sztefko i wsp. [15] udowodnili, że zastosowanie ciągłej estrogonowej HTZ podawanej transdermalnie lub doustnie ma wpływ na zmniejszenie stężenia GIP, GLP-1 oraz glukozy u kobiet po menopauzie, zarówno przed posiłkiem, jak

i po nim. Współcześnie stosowana HTZ to model leczenia skojarzonego łączący ze sobą równoczesne podawanie estrogenów z gestagenami [16]. Rola, jaką odgrywa progesteron w łagodzeniu objawów menopauzalnych, nie została jeszcze dokładnie zdefiniowana.

## Cel pracy

Ocena wpływu HTZ na wydzielanie GIP i GLP-1 w zależności od rodzaju zastosowanego gestagenu u kobiet po menopauzie.

## Materiał i metody

Badaniem objęto 105 kobiet po menopauzie w wieku od 52 do 66 lat (średnia wieku 59,0  $\pm$  3,4 roku). Żadna z pacjentek biorących udział w badaniu nie otrzymywała wcześniej HTZ ani nie była leczona z powodu cukrzycy, zaburzeń hormonalnych czy też zaburzeń układu krążenia. Wykonane badania internistyczne i ginekologiczne nie wykazały przeciwwskazań do zastosowania hormonalnej terapii zastępczej. Wszystkie kobiety wyraziły zgodę na udział w badaniach. Pacjentki losowo zostały zakwalifikowane do grup w zależności od zastosowanej terapii. Grupę I stanowiły 32 pacjentki, które otrzymywały przezskórną ciągłą suplementację 17- $\beta$ -estradiolem w dawce 0,05 mg/dobę (Oesclim 50; Fournier-Solvay) wraz z doustną podażą gestagenu – dydrogesteronu w dawce 5 mg/dobę (Duphaston; Solvay). Grupa II to 30 pacjentek, które otrzymywały w terapii ciągłej doustnie 2 mg 17- $\beta$ -estradiolu/dobę oraz 5 mg/dobę dydrogesteronu (Femoston; Solvay). Grupa III obejmowała 15 pacjentek, które otrzymywały przezskórną ciągłą suplementację 17- $\beta$ -estradiolem w dawce 0,05 mg/dobę (Oesclim 50; Fournier-Solvay) wraz z doustną podażą gestagenu – medroksyprogesteronu w dawce 5 mg/dobę (Gestomikron; Adamed). Grupa IV to 10 pacjentek, które otrzymywały suplementację ciągłą doustną w postaci 1 mg 17- $\beta$ -estradiolu oraz 0,5 mg/dobę noretisteronu (Activelle; Novo Nordisk). Grupę V stanowiło 18 pacjentek, u których nie stosowano HTZ (grupa kontrolna). Badania przeprowadzono na czczo i 60 min po posiłku. Posiłek składał się z dwóch kromek chleba pszenno-żytniego (50 g), masła (5 g), 4 plasterków szynki (50 g) i 100-procentowego soku pomarańczowego (250 ml). Krew pobierano do próbki na skrzep i do próbki z EDTA i aprotyniną. Po 6 mies. stosowania terapii lub obserwacji klinicznej dokonywano takich samych pobrań i tych samych oznaczeń jak w chwili rozpoczęcia badania. Insulinotropowy peptyd

zależny od glukozy i peptyd glukanopodobny 1 oznaczano w osoczu metodą RIA (Phoenix Peptide; USA). Stężenie 17-β-estradolu oznaczano w surowicy metodą RIA (Orion Diagnostica; Finlandia).

**Analiza statystyczna**

Cechy statystyczne typu ilościowego opisano poprzez: liczebność badanych grup, średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe. Do oceny różnicy zastosowanych parametrów pomiędzy badanymi grupami zastosowano test t-studenta dla zmiennych zależnych po wcześniejszym sprawdzeniu normalności rozkładu badanej cechy testem Shapiro-Wilka. Jako poziom istotności przyjęto  $p < 0,05$ . Do obliczeń wykorzystywano program Statistica 6.0 i Microsoft Exel.

**Wyniki**

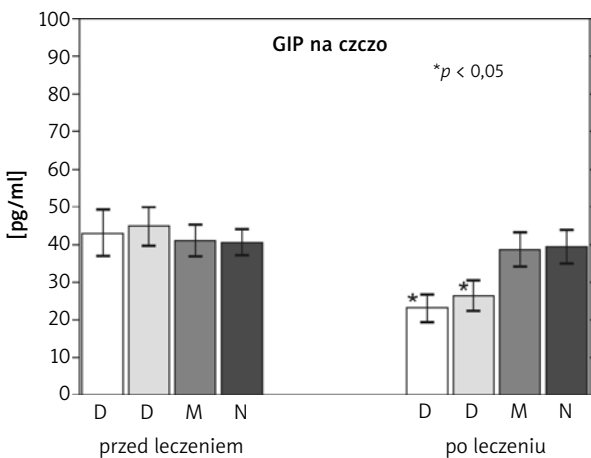
**Stężenie GIP, GLP-1, 17-β-estradolu**

Przed wprowadzeniem leczenia średnie wartości stężeń oznaczanych parametrów nie różniły się istotnie między sobą w poszczególnych grupach. W grupie I po 6-miesięcznej suplementacji przezskórnej 17-β-estradolem w połączeniu z dydrogesteronem stwierdzono zwiększenie średniej wartości stężenia estradiolu ( $19,1 \pm 2,9$  pg/ml vs  $48,6 \pm 3,8$  pg/ml;  $p < 0,05$ ) i zmniejszenie średniej wartości stężenia GIP i GLP-1 ( $p < 0,05$ ) na czczo i po posiłku. W grupie II pacjentki przyjmowały doustnie 17-β-estradol i dydrogesteron. Wraz ze zwiększeniem stężenia estrogenów ( $19,4 \pm 3,8$  pg/ml vs  $132,6 \pm 48$  pg/ml)  $p < 0,01$  po 6 mies. terapii również zanotowano zmniejszenie średnich wartości stężenia wszystkich oznaczanych parametrów przed posiłkiem i po posiłku. Istotne

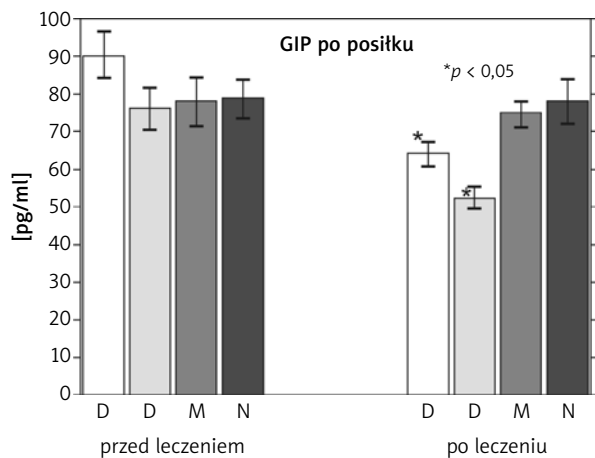
Tab. I. Wykaz danych

GIP na czczo		
przed leczeniem	po leczeniu	
43,0 ±6,1	23,1 ±3,7	dydrogesteron
44,9 ±5,1	26,5 ±4,1	dydrogesteron
41,1 ±4,2	39,7 ±4,4	medroksyprogesteron
42,3 ±3,3	39,5 ±4,3	noretisteron
GIP po posiłku		
przed leczeniem	po leczeniu	
90,2 ±6,4	64,2 ±3,2	dydrogesteron
76,3 ±5,5	52,5 ±2,8	dydrogesteron
78,1 ±6,4	74,9 ±3,4	medroksyprogesteron
80,2 ±5,1	78,1 ±5,8	noretisteron
GLP-1 na czczo		
przed leczeniem	po leczeniu	
8,9 ±1,2	5,9 ±1,1	dydrogesteron
8,3 ±1,1	7,8 ±1,1	dydrogesteron
8,5 ±1,2	8,5 ±2,3	medroksyprogesteron
8,3 ±1,4	8,3 ±1,2	noretisteron
GLP-1 po posiłku		
przed leczeniem	po leczeniu	
15,9 ±4,1	12,7 ±1,2	dydrogesteron
16,5 ±1,8	12,8 ±2,0	dydrogesteron
15,6 ±1,9	15,0 ±1,6	medroksyprogesteron
15,7 ±1,2	15,2 ±1,1	noretisteron

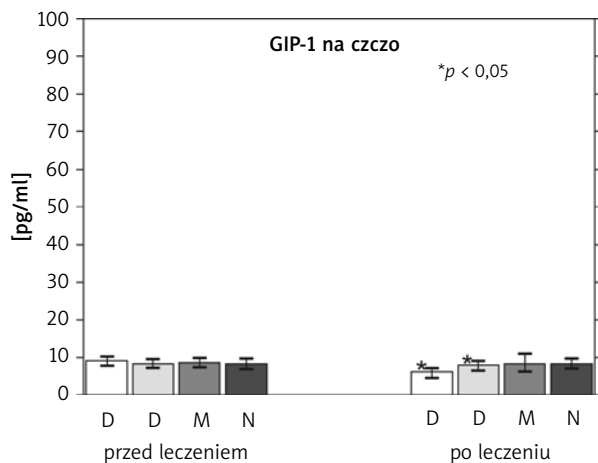
statystycznie dla GIP i GLP-1  $p < 0,05$ . Zastosowanie przezskórnej HTZ w postaci 17-β-estradolu w połączeniu z doustną podażą medroksyprogesteronu spowodowało zwiększenie stężenia estrogenów ( $22,1 \pm 5,3$  pg/ml vs  $45,9 \pm 12,3$  pg/ml;  $p < 0,05$ ) i niewielkie zmniejszenie



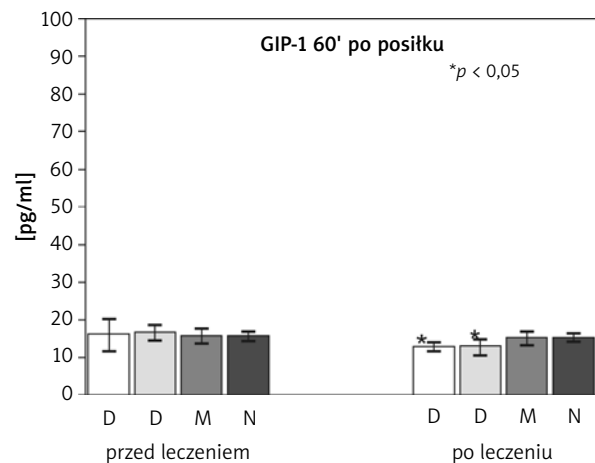
Ryc. 1. Średnie wartości stężenia GIP na czczo przed leczeniem i po 6 mies. leczenia w zależności od zastosowanego gestagenu (D – dydrogesteron, M – medroksyprogesteron, N – noretisteron)



Ryc. 2. Średnie wartości stężenia GIP po posiłku przed leczeniem i po 6 mies. leczenia w zależności od zastosowanego gestagenu (D – dydrogesteron, M – medroksyprogesteron, N – noretisteron)



**Ryc. 3.** Średnie wartości stężenia GLP-1 na czczo przed leczeniem i po 6 mies. leczenia w zależności od zastosowanego gestagenu (D – dydrogesteron, M – medroksyprogesteron, N – noretisteron)



**Ryc. 4.** Średnie wartości stężenia GLP-1 60 min po posiłku przed leczeniem i po 6 mies. leczenia w zależności od zastosowanego gestagenu (D – dydrogesteron, M – medroksyprogesteron, N – noretisteron)

średnich wartości stężenia GIP po 6-miesięcznej terapii. Wartości GLP-1 pozostawały na niezmiennym poziomie. Zmiany dotyczyły pobrań na czczo oraz po standardowym posiłku i nie były istotne statystycznie. W grupie IV (17- $\beta$ -estradiol z octanem noretisteronu) przy zwiększeniu stężenia estrogenów po 6 mies. terapii ( $19,5 \pm 4,1$  pg/ml vs  $96,6 \pm 10,1$  pg/ml;  $p < 0,05$ ) nie zanotowano zmian w stężeniach GIP i GLP-1 zarówno przed posiłkiem, jak i po posiłku w stosunku do stężeń, które obserwowano przed leczeniem. Opisane zmiany przedstawiono na rycinach 1–4. W grupie kontrolnej po 6 mies. obserwacji średnie stężenie estrogenów uległo zmniejszeniu ( $20,7 \pm 4,8$  pg/ml vs  $17,7 \pm 8,1$  pg/ml), natomiast GIP i GLP-1 na czczo i po posiłku pozostawały na niezmiennych poziomach. Zmiany te nie były istotne statystycznie.

## Dyskusja

Menopauza jest naturalnym okresem biologicznym w życiu każdej kobiety, w trakcie którego zachodzą zmiany w układzie podwzgórze–przysadka–jajniki. Upośledzenie syntezy hormonów płciowych, które obserwowane jest w tym czasie, to przyczyna występowania szeregu objawów nazywanych zespołem klimakterycznym [17]. Zmniejszenie stężenia hormonów steroidowych może doprowadzić do osteoporozy, niekorzystnych przemian metabolicznych dotyczących głównie gospodarki węglowodanowej, jak i lipidowej, zaburzeń w sprawnym funkcjonowaniu układu krzepnięcia, a to w konsekwencji doprowadza do groźnych powikłań w układzie sercowo-naczyniowym [18]. Dlatego też tak ważny jest indywidualny dobór odpowiedniego schematu HTZ – i to nie tylko ze względu na rodzaj zastosowanego estrogeny, ale również gestagenu. Wszystkie schematy leczenia HTZ przedstawione w tej pracy spowodowały istotne statystycznie zwiększenie

stężenia estrogenów ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ). W terapii, w której komponentę gestagenową stanowił dydrogesteron, zmniejszenie stężenia oznaczanych hormonów inkretynowych – zarówno przed posiłkiem, jak i po posiłku – było największe. Nie ma doniesień w piśmiennictwie opisujących wpływ HTZ na stężenie hormonów osi jelitowo-trzustkowej, takich jak GIP i GLP-1, u kobiet po menopauzie w zależności od zastosowanego gestagenu. Zagadnienie wydaje się istotne ze względu na rolę, jaką odgrywa oś jelitowo-trzustkowa w przemianach węglowodanowych. W przedstawionej pracy wyniki wydają się wskazywać na zależność pomiędzy rodzajem zastosowanego gestagenu i estrogeny a ich wspólnym oddziaływaniem na oś jelitowo-trzustkową u kobiet po menopauzie. Przeprowadzone badania potwierdzają, jak ważną rolę odgrywa indywidualny dostosowany do potrzeb pacjentki nie tylko schemat i rodzaj suplementacji (transdermalna, doustna), ale nie mniej ważny jest wybór odpowiedniego gestagenu. Duża liczba obecnych na rynku farmaceutycznym pochodnych gestagenów o różnej budowie chemicznej i zróżnicowanym powinowactwie do receptorów implikuje ich różnorakie właściwości, które przejawiają się m.in. wzmocnieniem korzystnego efektu estrogenowego w HTZ, jego osłabieniem lub też całkowitym zniesieniem tego efektu [19]. Jak wynika z przeprowadzonych w tej pracy badań, połączenie przezskórnej HTZ 17- $\beta$ -estradiolem z octanem medroksyprogesteronu przyczyniło się do nieznacznego zmniejszenia stężenia GIP, pozostawiając GLP-1 na niezmiennym poziomie, zarówno na czczo, jak i po posiłku. Zastosowanie octanu noretisteronu w połączeniu z 17- $\beta$ -estradiolem w doustnej HTZ osłabiło korzystny efekt oddziaływania estrogenów i pozostawiło oba hormony inkretynowe na niezmiennym poziomie zarówno przed posiłkiem, jak i po posiłku. Odmienne efekty zanotowano podczas

obserwacji grupy kobiet, które stosowały 17- $\beta$ -estradiol w formie przezskórnej oraz doustnej w połączeniu z dydrogesteronem. W obu grupach badanych zanotowano zmniejszenie stężenia GIP i GLP-1 – i to zarówno na czczo, jak i po posiłku.

## Wniosek

Zmniejszenie stężenia hormonów inktretynowych osi jelitowo-trzustkowej (GIP, GLP-1) zależy nie tylko od rodzaju zastosowanego schematu leczenia (terapia transdermalna, doustna), ale również od rodzaju zastosowanego gestagenu w HTZ.

## Piśmiennictwo

1. Ranganath L, Sedgwick I, Morgan L, et al. The ageing entero-insular axis. *Diabetologia* 1998; 41: 1309-13.
2. Radosavljević T, Todorović V, Nikolić JA, et al. The enteroinsular axis. *Arch Gastroenterohepatol* 2001; 20: 93-6.
3. Li Y, Hansotia T, Yusta B, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modulates beta cell apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 471-8.
4. Nauck MA, Hompesch M, Filipczak R, et al.; NN2211-1499 Study Group. Five weeks of treatment with the GLP-1 analogue liraglutide improves glycaemic control and lowers body weight in subjects with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006; 114: 417-23.
5. Kim MH, Lee MK. The Incretins and Pancreatic beta-Cells: Use of Glucagon-Like Peptide-1 and Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide to Cure Type 2 Diabetes Mellitus. *Korean Diabetes J* 2010; 34: 2-9.
6. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, et al. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet* 2002; 359: 824-30.
7. Vilsbøll T. On the role of the incretin hormones GIP and GLP-1 in the pathogenesis of Type 2 diabetes mellitus. *Dan Med Bull* 2004; 51: 364-70.
8. Åhrén B, Larsson H, Holst JJ. Reduced gastric inhibitory polypeptide but normal glucagon-like peptide 1 response to oral glucose in postmenopausal women with impaired glucose tolerance. *Eur J Endocrinol* 1997; 137: 127-31.
9. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 2006; 368: 1696-705.
10. Ehses JA, Lee SS, Pederson RA, et al. A new pathway for glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) receptor signaling: evidence for the involvement of phospholipase A2 in GIP-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem* 2001; 276: 23667-73.
11. Spencer CP, Godsland IF, Cooper AJ, et al. Effects of oral and transdermal 17beta-estradiol with cyclical oral norethindrone acetate on insulin sensitivity, secretion, and elimination in postmenopausal women. *Metabolism* 2000; 49: 742-7.
12. Holst JJ, Gromada J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287: E199-206.
13. PEPI Trial Writing Group. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in post-menopausal women. *JAMA* 1995; 272: 199-208.
14. Campagnoli C, Ambroggio S, Biglia N, et al. Conjugated estrogens and breast cancer risk. *Gin Endocrinol* 1999; 13: 13-9.
15. Sztefko K, Rogatko I, Milewicz T, et al. Effect of hormone therapy on the enteroinsular axis. *Menopause* 2005; 12: 630-8.
16. Odmark IS, Bäckström T, Haeger M, et al. Effects of continuous combined conjugated estrogen/medroxyprogesterone acetate and 17beta-estradiol/norethisterone acetate on lipids and lipoproteins. *Maturitas* 2004; 48: 137-46.
17. Buckler H. The menopause transition, endocrine changes and clinical symptoms. *J Br Menopause Soc* 2005; 11: 61-5.
18. Bingol B, Gunenc Z, Yilmaz M, et al. Effects of hormone replacement therapy on glucose and lipid profiles and on cardiovascular risk parameters in postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 281: 857-64.
19. Soranna L, Cucinelli F, Perri C, et al. Individual effect of E2 and dydrogesterone on insulin sensitivity in post-menopausal women. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: 547-50.