

Menopausa, terapia ormonale sostitutiva e rischio cardiovascolare. Basi biologiche ed evidenze cliniche

T. SIMONCINI, A.R. GENAZZANI

Menopausa, invecchiamento e patologia cardiovascolare

L'incidenza di patologia cardiovascolare aumenta progressivamente con l'invecchiamento in entrambi i sessi (1), ma il sesso femminile presenta un incremento di incidenza relativamente rapido in corrispondenza della menopausa (1). Per questo, la menopausa rappresenta un fattore indipendente di rischio cardiovascolare specifico per il sesso femminile (2).

Dal punto di vista metabolico, il climaterio rappresenta un momento di peggioramento dei fattori di rischio cardiovascolare. Dopo la menopausa si verificano una serie di modificazioni sfavorevoli del profilo lipidico, con un aumento del colesterolo totale dovuto ad una crescita delle concentrazioni di colesterolo associato a proteine a bassa (LDL-C) e bassissima (VLDL-C) densità e della lipoproteina (a) (Lp(a)), in associazione ad un modesto decremento delle concentrazioni di colesterolo HDL³. Dopo la menopausa si verifica inoltre un'alterazione dell'equilibrio emocoagulativo, con un aumento delle concentrazioni sieriche sia di fattori procoagulanti (come il fattore VII ed il fibrinogeno), che di fattori profibrinolitici (come la antitrombina III ed il plasminogeno) (3). Questi cambiamenti si associano ad altre alterazioni metaboliche derivanti dall'aumento del peso corporeo ed alla modificazione del grasso viscerale verso una distribuzione androide, con un aumento della resistenza insulinica ed alterazioni della tolleranza glucidica (3). Inoltre, in menopausa si assiste ad una riduzione della reattività vascolare legata ad una ridotta funzione endoteliale, sia in presenza che in assenza di ipertensione arteriosa (3).

In seguito all'osservazione di queste modificazioni metaboliche in associazione alla cessazione della funzione ovarica, la ricerca scientifica si è a lungo concentrata sul possibile ruolo protettivo degli steroidi sessuali sul sistema cardiovascolare. Negli ultimi

due decenni la ricerca di base ha in effetti portato alla scoperta di un'ampia serie di azioni regolatorie degli estrogeni sul sistema cardiovascolare che hanno fornito una solida base razionale per i supposti effetti cardioprotettivi di questi ormoni (4, 5).

Steroidi sessuali e sistema cardiovascolare: meccanismi di azione ed evidenze sperimentali

Gli estrogeni sono potenti induttori dell'espressione di una lunga serie di geni fondamentali per la funzione delle cellule endoteliali e muscolari lisce vascolari (5). Attraverso l'induzione di questi geni gli estrogeni promuovono il corretto funzionamento delle componenti cellulari dei vasi e ne prevengono la disfunzione. La deprivazione estrogenica menopausale è causa di una progressiva riduzione dello stimolo all'espressione di questo rilevante set di geni e contribuisce all'insorgenza di una progressiva disfunzione vascolare.

In aggiunta a queste azioni trascrizionali degli steroidi sessuali, esiste una vasta serie di fenomeni di regolazione vascolare da parte degli estrogeni e di altri steroidi che non dipendono dall'induzione o dalla repressione dell'espressione genica. Queste azioni sono molto rapide, e dipendono dal reclutamento di vie di segnale a livello citoplasmatico o a livello della membrana plasmatica da parte dei recettori per gli estrogeni.

Questi meccanismi di azione sono stati genericamente denominati "non-genomici" (6) e sono rilevanti per il mantenimento di una corretta funzione vascolare (7-12) e per l'adattamento della parete vascolare a situazioni di stress, come in condizioni di ischemia-riperfusion (13, 14).

Attraverso questa varietà di azioni, appare chiaro che gli estrogeni sono biologicamente importanti per la realizzazione di una corretta funzione vascolare, ma una serie di quesiti clinici rimangono aperti: la protezione vascolare che deriva da queste azioni è rilevante da un punto di vista clinico? La correzione

Università degli Studi di Pisa
Dipartimento di Medicina della Procreazione e dell'Età Evolutiva
Divisione di Ginecologia e Ostetricia

della deprivazione estrogenica dopo la menopausa è sufficiente a correggere la tendenza verso la patologia aterosclerotica associata all'invecchiamento? Come deve essere eventualmente effettuata e con quali molecole la sostituzione ormonale? I dati che derivano dagli studi sui modelli animali più complessi, i primati, indicano una serie di concetti utili per dare una risposta a queste domande: la menopausa è associata ad un'accelerata degenerazione aterosclerotica; la sostituzione ormonale con estrogeni e/o progesterone è in grado di prevenire lo sviluppo di aterosclerosi precoce in maniera efficace; tuttavia, questo è vero solo se la sostituzione viene effettuata precocemente dopo la menopausa, quando l'albero vascolare degli animali è ancora sano, mentre, se iniziata in menopausa più avanzata o in presenza di patologia aterosclerotica conclamata, nessun effetto curativo è riscontrabile (15). Tenendo presenti questi concetti è possibile discutere ed interpretare i sorprendenti ed apparentemente contrastanti risultati dei grandi trials recentemente condotti sull'uso della terapia ormonale sostitutiva per la prevenzione ed il trattamento della patologia cardiovascolare in postmenopausa.

Terapia ormonale sostitutiva e rischio cardiovascolare: studi clinici

Il concetto che l'uso di terapie ormonali sostitutive dopo la menopausa abbia effetti protettivi sul rischio cardiovascolare è supportata da vari studi condotti nel recente passato (16, 17).

Il primo studio di coorte ad indicare questa possibilità è stato il *Nurses' Health Study*, che ha descritto una riduzione dell'incidenza di eventi coronarici maggiori tra il 40% ed il 60% nelle donne che utilizzano terapie estro-progestiniche in postmenopausa rispetto alle donne che non ne fanno uso (16). Il beneficio permane per 4-5 anni dalla cessazione della terapia, con una progressiva riduzione del vantaggio dopo la sospensione. L'analisi della mortalità globale nella stessa coorte inoltre ha riportato che le utilizzatrici di terapie sostitutive hanno un rischio di morte per tutte le cause ridotto del 40% e che le donne a maggior rischio cardiovascolare sono quelle che beneficiano maggiormente dell'uso di terapie ormonali (17). I dati del *Nurses' Health Study* sono stati confermati da una serie di studi osservazionali, ed una recente meta-analisi ha confermato l'entità della protezione cardiovascolare in corso di terapia ormonale sostitutiva (18).

Tuttavia, l'efficacia delle terapie ormonali sostitutive nella prevenzione della patologia cardiovascolare è stata negli ultimi anni messa in dubbio dalla pubblicazione di grandi trials clinici randomizzati, che sono

stati sviluppati per rispondere alla critica corretta di un possibile bias di selezione per gli studi osservazionali.

Il primo di questi trials è stato l'*Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study* (HERS) (19). Lo HERS è un trial di prevenzione secondaria che ha arruolato una popolazione di 2.763 donne in postmenopausa con patologia cardiovascolare dimostrata. Le pazienti sono state randomizzate a trattamento con placebo o estrogeni coniugati equini (0.625 mg/die) combinati con medrossiprogesterone acetato (2.5 mg/die) in regime combinato/continuo, per una durata media di 4.1 anni con l'*end-point* primario della prevenzione di nuovi eventi cardiovascolari. Questo studio ha dimostrato che il trattamento ormonale non previene lo sviluppo di successivi infarti del miocardio, mentre durante il primo anno di trattamento è associata ad un incremento del rischio di eventi tromboembolici (19).

Dopo la pubblicazione dello studio HERS, si è creato un grande dibattito che ha messo in dubbio l'uso delle terapie ormonali sostitutive al fine di prevenire lo sviluppo di patologia cardiovascolare, nonostante il fatto che i risultati dello HERS abbiano un valore estremamente limitato nella normale pratica clinica. Infatti, l'età media delle pazienti al momento dell'arruolamento era di oltre 67 anni, l'indice di massa corporea elevato (superiore a 27 nel 57% delle pazienti), la prevalenza di comorbidità estremamente elevata, in particolare di ipertensione arteriosa, di ipercolesterolemia e di alterazioni glico-metaboliche. È perciò evidente che i criteri di inclusione dello HERS individuano una popolazione che nella prassi clinica difficilmente verrebbe avviata ad una terapia estrogenica sostitutiva *de novo* con il dosaggio utilizzato nello studio. A conferma di questo, uno studio retrospettivo condotto presso il Centro della Menopausa del nostro Istituto ha dimostrato che, su 1.459 donne consecutive che si sono presentate presso i nostri ambulatori, solo lo 0.4% presentava i criteri di ammissione utilizzati per lo studio HERS (20).

I risultati dello HERS sono stati supportati dallo *Estrogen Replacement and Atherosclerosis* (ERA) trial (21). Questo studio ha analizzato in maniera prospettica e randomizzata una coorte di 309 donne con lesioni coronariche angiograficamente verificate. Le partecipanti sono state assegnate a terapia con placebo, estrogeni coniugati equini da soli o in associazione continua con medrossiprogesterone acetato per tre anni, dopo di che sono state rivalutate angiograficamente. Né la terapia estrogenica né la terapia estroprogestinica hanno ridotto l'evoluzione delle placche coronariche che sono risultate stabili sia nel gruppo trattato che nel gruppo di controllo. Anche in questo studio è stata arruolata una popolazione in menopausa avanzata, con malattia coronarica estesa, mai sottoposta prima a sostituzione ormonale e nella quale la terapia veniva iniziata con dosi elevate.

In definitiva, pur avendo il merito di aver aperto un grande dibattito sull'utilità della somministrazione di estrogeni e progesterone per la prevenzione della patologia cardiovascolare, questi primi trials di intervento secondario hanno in realtà dimostrato solo ciò che era ampiamente ovvio: gli steroidi sessuali non sono molecole utili per trattare eventi coronarici in atto o ricorrenti, ed anzi, la somministrazione di alte dosi di estrogeni in donne anziane e con aterosclerosi estesa è in grado di scatenare fenomeni tromboembolici potenzialmente fatali, cosa peraltro già nota.

Per questo motivo grandi aspettative per informazioni cliniche più utili erano rivolte verso lo *Women's Health Initiative* (WHI) trial negli USA. Il WHI è stato pianificato nel 1991-92 e si prefiggeva di definire, nell'arco di 15-20 anni, rischi e benefici di strategie instaurate per ridurre l'incidenza di patologie croniche come quella cardiaca, delle fratture ossee e di tumori della mammella e del colon-retto in donne in postmenopausa, con il fine ambizioso di rispondere al quesito: esistono una o più forme di intervento farmacologico o di modificazione dello stile di vita, applicabili in maniera diffusa alla popolazione femminile postmenopausale statunitense, in grado di ridurre l'incidenza e la morbilità di patologie croniche degenerative legate all'invecchiamento?

Tra il 1993 ed 1998 il WHI ha arruolato circa 161.809 donne in menopausa tra i 50 ed i 79 anni che sono state randomizzate in cinque diversi tipi di intervento (placebo, CEE 0.625 mg/die + MPA 2.5 mg/die, CEE 0.625 mg/die - donne isterectomizzate -, vitamina D + calcio, dieta + esercizio fisico). Nel marzo 2002 è stato interrotto precocemente il braccio del trial che arruolava le donne in trattamento attivo con CEE + MPA, in base alla valutazione in itinere di un parametro globale di rischio/beneficio stimato dal *Drug Safety Monitoring Board* del trial (22). La prematura interruzione del braccio CEE + MPA è stata motivata dalla valutazione che il rischio globale di incidenza di tumore della mammella fosse aumentato oltre i margini di sicurezza stabiliti all'inizio del trial, esponendo le donne arruolate ad un rischio superiore ai teorici benefici indotti dalla terapia ormonale. Più recentemente, anche il braccio dello studio in cui donne isterectomizzate sono state trattate con soli CEE è stato interrotto prematuramente, con motivazioni molto più discutibili (23). Dal punto di vista cardiovascolare, notevoli differenze sono emerse dai risultati dei due trials, che hanno reso ancora più complessa l'interpretazione dello studio nel suo complesso. Entrambi gli studi non hanno evidenziato riduzioni di incidenza di patologia cardiovascolare nel complesso del gruppo di donne (22-24). Mentre nel trial con CEE + MPA è stato riportato un significativo eccesso di eventi cardiovascolari nelle pazienti più anziane (anche se non nelle donne con meno di 70 anni al reclutamento) (22), nel

trial con soli CEE nessun aumento di rischio di eventi coronarici è stato identificato in nessuna delle fasce di età (23). Inoltre, nelle donne più giovani, che più si avvicinano alla paziente tipo della pratica clinica, un trend verso una protezione di circa il 50% di eventi coronarici è stato identificato, ma non è divenuto significativo unicamente per la prematura interruzione del braccio di studio (23). I risultati di questo studio hanno improvvisamente riaperto il dibattito sul ruolo della terapia ormonale dopo la menopausa, indicando i temi della finestra di inizio della terapia e probabilmente il tipo di terapia utilizzata come i possibili fattori critici per determinare gli effetti cardiovascolari (e non solo).

La filosofia di intervento di massa alla base del WHI rende questo studio allo stesso tempo estremamente potente ma anche enormemente difficile da trasferire nella pratica clinica di tutti i giorni. La prima conseguenza di questa impostazione è la forbice molto ampia di età di ingresso nello studio (22, 24), con un'età media all'arruolamento delle pazienti di 63.3 anni e con un 25% di donne di un'età compresa tra i 70 e 79 anni all'inizio del trattamento. Inoltre, come comune nella popolazione generale femminile di questa fascia di età, le pazienti reclutate presentavano all'ingresso nello studio una prevalenza di fattori di rischio cardiovascolare importanti quali obesità (nel 34% dei casi), ipertensione (36%), fumo di sigaretta (49%) e circa 1.200 donne avevano anamnesi positive per pregressa patologia cardiovascolare (angina pectoris, infarto miocardico, interventi di rivascolarizzazione) (4, 5). Questo rende questa coorte un fedele specchio delle potenziali conseguenze della somministrazione di massa di estroprogestinici a donne comuni americane in postmenopausa avanzata, in cui la prevalenza di fattori di rischio cardiovascolare è alta. Purtroppo, queste caratteristiche rendono questo trial quanto di più diverso da uno studio sui possibili effetti protettivi della somministrazione di estrogeni al fine di prevenire la degenerazione vascolare aterosclerotica in donne sane al momento della transizione menopausale.

Menopausa, terapia ormonale sostitutiva e rischio cardiovascolare. Come riconciliare le basi biologiche con le evidenze cliniche?

A dieci anni di distanza dalla pubblicazione dei primi grandi studi epidemiologici sulla menopausa e sull'influenza della sostituzione ormonale sulla prevenzione di importanti patologie, come quella coronarica, c'è ancora un numero di domande aperte di gran lunga superiore a quelle per le quali abbiamo avuto risposta.

Sebbene sia paradossale, stiamo cominciando ad apprezzare la sostanza alla base della maggiore critica che veniva rivolta negli anni novanta ai trials sulla terapia

ormonale sostitutiva: “funziona perché viene prescritta a donne sane”, o, per gli inglesi, lo “*healthy woman bias*”. Il tempo sta svelando le profonde implicazioni di questo concetto, aiutato dalla comprensione della biologia delle azioni vascolari degli steroidi.

In effetti, nonostante la massiccia copertura medica degli studi HERS e ERA, non esistono evidenze sperimentali che suggeriscano un possibile ruolo per gli steroidi sessuali femminili nella prevenzione di eventi cardiovascolari in presenza di malattia aterosclerotica già estesa, per cui questi studi sono stati progettati senza un razionale concettualmente legato alle reali conoscenze biologiche del tempo, e per questo non rispondono ai quesiti clinici importanti sulla terapia ormonale postmenopausale. Al contrario, i meccanismi molecolari evidenziati fino ad oggi e tutti gli studi animali, indicano che gli estrogeni hanno un ruolo importante nella prevenzione di aterosclerosi e nel mantenimento della corretta funzione vascolare agendo su arterie sane. Questi studi forniscono perciò un presupposto razionale per un possibile ruolo delle terapie ormonali sostitutive nella prevenzione primaria della patologia cardiovascolare in donne sane, quando iniziate precocemente dopo la menopausa. Questo conduce all'ovvia considerazione che anche lo studio WHI non può, se non in maniera molto limitata, offrire risposte utili a chiarire il dubbio sempre aperto: può la sostituzione ormonale con estrogeni e/o progesterone prevenire o rallentare lo sviluppo di aterosclerosi nella donna in postmenopausa?

In questo senso, è la comprensione dei meccanismi di segnale degli ormoni steroidei che indica la via maestra da seguire per poter meglio interpretare i risultati degli studi di cui disponiamo attualmente. È necessaria la presenza di recettori funzionali per gli steroidi sessuali a livello cellulare perché questi steroidi agiscano. L'espressione dei recettori dipende in parte dalla esposizione continuata agli ormoni steroidei, ed è pertanto ragionevole pensare che la somministrazione di steroidi in donne in menopausa avanzata non abbia gli stessi effetti che in donne in perimenopausa. La regolazione della funzione cellulare da parte degli estrogeni dipende da una serie molto complessa di interazioni con diversi apparati cellulari, che vanno dall'induzione dell'espressione di geni, alla repressione di altri, all'attivazione diretta di rapide vie citoplasmatiche di segnale che portano alla modificazione funzionale di una serie lunghissima di enzimi cellulari. Il fenotipo cellulare

di una cellula che vive in un ambiente sano, come in un vaso non affetto da aterosclerosi, è completamente diverso da quello di una cellula in un ambiente patologicamente alterato dove è esposta a noxae patogene (alti livelli di colesterolo, LDL ossidate, radicali liberi dell'ossigeno, citochine infiammatorie, flusso turbolento...). Allo stesso modo sarà diversa la risposta di queste due cellule allo stimolo con lo stesso steroide, in virtù del mutato fenotipo cellulare, e diverse saranno le conseguenze funzionali e cliniche. Ancora, sebbene nella comune pratica i diversi estrogeni e progestinici disponibili per la terapia della sindrome climaterica siano usati in larga misura indifferentemente, ci sono basi biologiche per pensare che molecole diverse, pur legando uno stesso recettore, siano in grado di indurre conformazioni recettoriali diverse, e quindi azioni biologiche diverse (25).

Conclusioni

L' utilizzo delle terapie ormonali sostitutive in postmenopausa per la prevenzione delle complicanze a lungo termine della deprivazione estrogenica è in questo periodo messa in discussione da parte della comunità scientifica, dai mass media e dalle autorità di regolazione nazionali ed internazionali. I grandi trials clinici hanno messo in dubbio l'efficacia della HRT per la prevenzione della patologia cardiovascolare, ma questi studi hanno forti limitazioni metodologiche che impediscono largamente di applicarne i risultati alla pratica clinica.

Al contrario, la serena valutazione dei dati sperimentali a nostra disposizione indica che gli steroidi sessuali sono potenti regolatori del sistema cardiovascolare, e che possono giocare un ruolo importante per preservare una corretta funzione vascolare durante il processo di invecchiamento.

L'attuale situazione di profonda incertezza sul ruolo da attribuire a queste terapie, al di là di interessi e convinzioni specifiche, necessita di ulteriori ricerche di base che, rendendo più completa la nostra ancora troppo parziale conoscenza in questo campo, forniscano nuove chiavi di lettura per orientare ed interpretare i nuovi, necessari, trials clinici, con l'obiettivo di fornire informazioni più accurate agli operatori del settore, ma soprattutto alle nostre pazienti.

Bibliografia

1. BRITISH HEART FOUNDATION: *European cardiovascular disease statistics 2000 edition*. 2000.
2. BRAUNWALD E.: *Shattuck lecture-cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities*. N Engl J Med 337:1360-9, 1997.
3. GENAZZANI A.R., GAMBACCIANI M.: *Cardiovascular disease and hormone replacement therapy*. Position Paper from the International Menopause Society Expert Workshop. Climacteric 3:233-240, 2000.
4. SIMONCINI T., GENAZZANI A.R.: *Direct vascular effects*

- of estrogens and selective estrogen receptor modulators. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 12:181-7, 2000.
5. MENDELSON M.E., KARAS R.H.: *The protective effects of estrogen on the cardiovascular system*. *N Engl J Med*, 340:1801-11, 1999.
 6. SIMONCINI T., GENAZZANI A.R.: *Non-genomic actions of sex steroid hormones*. *Eur J Endocrinol*, 148:281-92, 2003.
 7. SIMONCINI T., VARONE G., FORNARI L., MANNELLA P., LUISI M., LABRIE F. et al.: *Genomic and Nongenomic Mechanisms of Nitric Oxide Synthesis Induction in Human Endothelial Cells by a Fourth-Generation Selective Estrogen Receptor Modulator*. *Endocrinology*, 143:2052-2061, 2002.
 8. SIMONCINI T., GENAZZANI A.R., LIAO J.K.: *Nongenomic mechanisms of endothelial nitric oxide synthase activation by the selective estrogen receptor modulator raloxifene*. *Circulation*; 105:1368-73 2002.
 9. SIMONCINI T., MANNELLA P., FORNARI L., VARONE G., CARUSO A., GENAZZANI A.R.: *Dehydroepiandrosterone modulates endothelial nitric oxide synthesis via direct genomic and nongenomic mechanisms*. *Endocrinology*, 144:3449-55, 2003.
 10. SIMONCINI T., RABKIN E., LIAO J.K.: *Molecular basis of cell membrane estrogen receptor interaction with phosphatidylinositol 3-kinase in endothelial cells*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23:198-203, 2003.
 11. SIMONCINI T., MANNELLA P., FORNARI L., CARUSO A., VARONE G., GARIBALDI S. et al.: *Tibolone Activates Nitric Oxide Synthesis in Human Endothelial Cells*. *J Clin Endocrinol Metab*, 89:4594-4600, 2004.
 12. SIMONCINI T., FORNARI L., MANNELLA P., VARONE G., CARUSO A., GARIBALDI S., et al.: *Differential estrogen signaling in endothelial cells upon pulsed or continuous administration*. *Maturitas*, 50:247-58, 2005.
 13. SIMONCINI T., HAFEZI-MOGHADAM A., BRAZIL D., LEY K., CHIN W.W., LIAO J.K.: *Interaction of Oestrogen Receptor with the Regulatory Subunit of Phosphatidylinositol-3-OH Kinase*. *Nature*, 407:538-541, 2000.
 14. HAFEZI-MOGHADAM A., SIMONCINI T., YANG E., LIMBOURG F.P., PLUMIER J.C., REBSAMEN M.C. et al.: *Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase*. *Nat Med*, 8:473-9, 2002.
 15. WILLIAMS J.K., ADAMS M.R., KLOPFENSTEIN H.S.: *Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries*. *Circulation*, 81:1680-7, 1990.
 16. GRODSTEIN F., STAMPFER M., MANSON J., CODITZ G., WILLETT W., ROSNER B. et al.: *Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease*. *N Engl J Med*, 335:453-461, 1996.
 17. GRODSTEIN F., STAMPFER M.J., COLDITZ G.A., WILLETT W.C., MANSON J.E., JOFFE M. et al.: *Postmenopausal hormone therapy and mortality*. *N Engl J Med*, 336:1769-75, 1997.
 18. NELSON H.D., HUMPHREY L.L., NYGREN P., TEUTSCH S.M., ALLAN J.D.: *Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review*. *JAMA*, 288:872-81, 2002.
 19. HULLEY S., GRADY D., BUSH T., FURBERG C., HERRINGTON D., RIGGS B., et al.: *Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women*. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA*, 280:605-13, 1998.
 20. GAMBACCIANI M., ROSANO G., MONTELEONE P., FINI M., GENAZZANI A.: *Clinical relevance of the HERS trial*. *Lancet*, 360:641, 2002.
 21. HERRINGTON D.M., REBOUSSIN D.M., BROSNIHAN K.B., SHARP P.C., SHUMAKER S.A., SNYDER T.E., et al.: *Effects of Estrogen Replacement on the Progression of Coronary Artery Atherosclerosis*. *N Engl J Med*, 343:522-529, 2000.
 22. THE WRITING GROUP FOR THE WOMEN'S HEALTH INITIATIVE INVESTIGATORS: *Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial*. *JAMA*, 288:321-33, 2002.
 23. THE WOMEN'S HEALTH INITIATIVE STEERING COMMITTEE: *Effects of Conjugated Equine Estrogen in Postmenopausal Women With Hysterectomy: The Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial*. *JAMA*, 291:1701-1712, 2004.
 24. MANSON J.E., HSIA J., JOHNSON K.C., ROSSOUW J.E., ASSAF A.R., LASSER N.L., et al.: *Estrogen plus Progestin and the Risk of Coronary Heart Disease*. *N Engl J Med*, 349:523-534, 2003.
 25. SIMONCINI T., MANNELLA P., FORNARI L., CARUSO A., WILLIS M.Y., GARIBALDI S., et al.: *Differential signal transduction of progesterone and medroxyprogesterone acetate in human endothelial cells*. *Endocrinology*, 145:5745-56, 2004.