



PROGRESOS de OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

www.elsevier.es/pog



ORIGINAL

Molécula de adhesión celular vascular 1 en menopáusicas tratadas con estradiol oral o transdérmico



Geraldine Lopez-Sánchez^a, Ismael Suarez-Torres^b, Eduardo Reyna-Villasmil^{b,*},
Jorly Mejia-Montilla^b, Joel-Santos-Bolívar^b, Duly Torres-Cepeda^b, Jhoan Aragón-Charry^b
y Nadia Reyna-Villasmil^b

^a Servicio de Medicina Interna y Endocrinología, Hospital Central «Dr. Urquinaona», Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

^b Servicio de Ginecología, Hospital Central «Dr. Urquinaona», Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

Recibido el 21 de enero de 2014; aceptado el 2 de marzo de 2015

Disponible en Internet el 17 de abril de 2015

PALABRAS CLAVE

Estradiol;
Menopausia;
Transdérmico;
Molécula de adhesión
celular vascular 1

Resumen

Objetivo: Comparar las modificaciones de las concentraciones plasmáticas de la molécula de adhesión celular vascular 1 en menopáusicas tratadas con estradiol por vía oral o transdérmica después de 3 meses de uso.

Materiales y métodos: Se realizó una investigación con una muestra de 70 pacientes menopáusicas que asistieron a la consulta de Medicina Interna, Endocrinología y Menopausia del Hospital Central «Dr. Urquinaona». Se asignó a 35 pacientes tratamiento con estradiol por vía oral (grupo A) y a 35 pacientes tratamiento con estradiol transdérmico (grupo B). Se evaluaron las concentraciones plasmáticas de la molécula de adhesión celular vascular 1 antes y después de 3 meses de tratamiento.

Resultados: No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las características generales entre los 2 grupos antes del tratamiento ($p = ns$). Las concentraciones plasmáticas la molécula de adhesión celular vascular 1 demostraron una reducción después de 3 meses de tratamiento en ambos grupos (grupo A: $442,6 \pm 47,9$ ng/ml al inicio comparado con $386,8 \pm 40,3$ ng/ml después del tratamiento y grupo B: $405,0 \pm 42,8$ ng/ml después del tratamiento comparado con el valor promedio inicial de $445,1 \pm 59,9$ ng/ml; $p < 0,05$).

Conclusión: El uso de estradiol transdérmico puede ser una alternativa eficaz al uso de estradiol por vía oral después de 3 meses de uso, debido a que ambos tratamientos producen disminuciones en las concentraciones plasmáticas la molécula de adhesión celular vascular 1.

© 2014 SEGO. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sippenbauch@gmail.com (E. Reyna-Villasmil).

KEYWORDS

Estradiol;
Menopause;
Transdermal;
Vascular cell adhesion
molecule-1

Vascular cellular adhesion molecule-1 in postmenopausal women treated with oral or transdermal estradiol

Abstract

Objective: To compare modifications of plasma concentrations of vascular cellular adhesion molecule-1 in postmenopausal women treated with oral or transdermal estradiol after 3 months of use.

Materials and methods: This study included 70 postmenopausal women attending the Internal Medicine, Endocrinology and Menopause Departments at the “Dr. Urquinaona” Central Hospital. Thirty-five patients were treated with oral estradiol (group A) and 35 patients with transdermal estradiol (group B). Plasma concentrations of vascular cellular adhesion molecule-1 were measured before and after 3 months of treatment.

Results: There were no statically significant differences in general characteristics between the two treatment groups ($p = ns$). In both groups, plasma concentrations of vascular cell adhesion molecule-1 were reduced after 3 months of treatment (group A: 442.6 ± 47.9 ng/mL before treatment versus 386.8 ± 40.3 ng/mL after treatment, and group B: 405.0 ± 42.8 ng/mL after treatment versus an initial mean value of 445.1 ± 59.9 ng/mL; $P < .05$)

Conclusion: Transdermal estradiol could be an effective alternative to oral estradiol after 3 months of use, since both treatments decreased plasma concentrations of vascular cell adhesion molecule-1.

© 2014 SEGO. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Se considera que la alteración de la función endotelial desempeña un papel central en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares como paso inicial en el proceso de aterosclerosis. El endotelio está involucrado en numerosas funciones fisiológicas, como regulación del tono y la permeabilidad vascular, el mantenimiento del equilibrio coagulación-fibrinólisis y la proliferación de las células vasculares lisas. El endotelio vascular produce mediadores reguladores paracrinos, entre los que se encuentran el óxido nítrico, la endotelina-1 y una variedad de moléculas de adhesión vascular¹.

La molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1) media la adhesión y la migración de los leucocitos en la íntima arterial². Se ha demostrado que las concentraciones circulantes se asocian a la extensión de la aterosclerosis y la aparición de eventos coronarios^{1,3}. Estudios recientes han demostrado que la administración por vía oral de estrógenos disminuye las concentraciones de las moléculas de adhesión celular⁴⁻⁷.

La incidencia de la enfermedad cardíaca coronaria es menor en las mujeres premenopáusicas que en los hombres de la misma edad y esta crece en forma constante después de la menopausia. Varios estudios prospectivos han indicado que la terapia de reemplazo hormonal puede disminuir el riesgo⁸. Esta asociación puede ser parcialmente mediada a través de los cambios en los lípidos plasmáticos, los factores de coagulación y la fibrinólisis, efectos vasomotores y antioxidantes^{4,7}. El efecto cardioprotector de los estrógenos también puede deberse a los cambios favorables en la función endotelial. Los estrógenos afectan a la biodisponibilidad de óxido nítrico derivado del endotelio y, por lo tanto, incrementar la vasodilatación dependiente del endotelio⁹.

La ruta de administración es una variable importante que afecta al tipo y la magnitud de los cambios inducidos en el metabolismo. El estradiol transdérmico aporta la dosis sufi-

ciente de estrógenos homogéneos a todos los órganos y sistemas. Este efecto del primer paso metabólico en el hígado se ha considerado como un factor clave en esos cambios, debido a que la concentración de estrógenos que llega al hepatocito a través de la vena porta excede la dosis que llega por otras vías de administración^{10,11}. Una observación frecuente es que, mientras el estradiol transdérmico tiene menos efectos en las concentraciones plasmáticas de colesterol, lipoproteínas de alta densidad y lipoproteínas de baja densidad, no incrementa —e incluso reduce— las de triglicéridos. No existe acuerdo en relación con estos cambios; sin embargo, el rango de efectos inducidos por este tipo de tratamiento es mucho menor al descrito por el tratamiento hormonal sustitutivo oral¹⁰. Los datos que evalúan los efectos de los estrógenos transdérmicos sobre las concentraciones de la VCAM-1 vascular son escasos¹¹.

El objetivo de la investigación fue comparar las modificaciones de las concentraciones de la VCAM-1 en menopáusicas tratadas con estradiol por vía oral o transdérmico después de 3 meses de uso.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en las consultas de Medicina Interna, Endocrinología y Menopausia del Hospital Central «Dr. Urquinaona». Se seleccionó a pacientes menopáusicas a las que se asignó de forma aleatorizada a 2 grupos: a las del grupo A se administró 1 mg de estradiol diario por vía oral y a las del grupo B se indicó la colocación de un parche transdérmico de 30 mg de estradiol, que se cambió cada 3 días y se colocó en la parte inferior de la pared abdominal. Los números para la asignación a cada grupo de tratamiento se generaron con la ayuda de tablas de números al azar. Se utilizó un sistema de sobres sellados que contenían la ubicación en los grupos de tratamiento. Los sobres se abrieron

en el momento de iniciar el tratamiento hormonal. El Comité de Ética e Investigación del hospital aprobó la investigación.

Se incluyó a mujeres con menopausia natural con, por lo menos, un año de evolución, con concentraciones de hormona foliculoestimulante (FSH) superiores a 35 UI/l y estradiol menor de 30 pg/ml. Se excluyó a todas las mujeres con antecedentes familiares o personales de alergia al estradiol oral o transdérmico, que utilizaran cualquier medicamento que alterase la coagulación, la fibrinólisis y el metabolismo lipídico u óseo. Ninguna de las menopáusicas debía tener historia familiar o personal de alteraciones lipídicas o glucémicas.

Antes del inicio del estudio, se obtuvo el consentimiento por escrito de todas las mujeres. Después se les realizaron determinaciones de las concentraciones de FSH y estradiol sérico para confirmar el estado menopáusico. Las concentraciones séricas de VCAM-1 se determinaron antes de iniciar el tratamiento y después de 3 meses del uso de estradiol por vía oral o estradiol transdérmico.

Después de un ayuno de 12 h, se tomó una muestra (10 ml) de la vena antecubital con las mujeres en posición sentada antes de las 9 de la mañana. Las muestras de suero se colocaron en tubos siliconados con 1 ml de citrato trisódico al 3,2% y, posteriormente, se centrifugaron a 4.000 rpm por 30 min y almacenaron en tubos de plásticos a -50°C antes del ensayo. Las concentraciones circulantes de la VCAM-1 se midieron utilizando una prueba de ELISA comercial (R&D Systems, Reino Unido). La sensibilidad de la prueba para la determinación fue de 2 ng/ml con coeficientes de variación intra e interensayos del 5 y el 10%, respectivamente.

Los valores se expresaron como valores absolutos y relativos. Los datos se presentan en tablas. Se utilizó la prueba de la t de Student para muestras no relacionadas para comparar las diferencias en las concentraciones plasmáticas de la VCAM-1 entre los grupos y la t de Student para muestras relacionadas para establecer las diferencias en las concentraciones antes y después en cada uno de los grupos de tratamiento. Se consideró $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

Resultados

Un total de 70 menopáusicas cumplieron los criterios de inclusión y se las eligió para el estudio. Se asignó a 35 pacientes menopáusicas a tratamiento con estradiol por vía oral (grupo A) y a 35 pacientes tratamiento con estradiol

transdérmico (grupo B). En la [tabla 1](#) se muestran las características generales. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos de tratamiento en relación con la edad, las edad al momento de la menopausia, la presión arterial sistólica y diastólica, y las concentraciones de FSH y estradiol ($p > 0,05$).

En la [tabla 2](#) se muestran las concentraciones promedio de VCAM-1 antes y después del tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones entre ambos grupos antes del tratamiento ($p > 0,05$). Las concentraciones de la VCAM-1 demostraron una reducción después de 3 meses de tratamiento en ambos grupos ($p < 0,05$). Las pacientes menopáusicas tratadas con estradiol por vía oral presentaron una disminución estadísticamente significativa (mayor al 11%) de las concentraciones luego de 3 meses de tratamiento al compararlas con los valores promedios iniciales ($442,6 \pm 47,9$ ng/ml al inicio comparado con $386,8 \pm 40,3$ ng/ml después del tratamiento; $p < 0,05$). En el grupo B, también se encontró una disminución significativa (cercana al 9%) de las concentraciones de la VCAM-1 después de 3 meses de tratamiento con estradiol transdérmico ($405,0 \pm 42,8$ ng/ml comparado con el valor promedio inicial de $445,1 \pm 59,9$ ng/ml; $p < 0,05$).

Discusión

En la presente investigación, se observó que tanto el estradiol oral como el estradiol transdérmico producen disminución de VCAM-1, un marcador sérico de activación y lesión vascular. Es bien conocido que la disminución de la liberación de VCAM-1 determina la reducción en la fijación de monocitos a la pared de los vasos y esto puede ser un efecto protector contra la aterosclerosis. La terapia de reemplazo hormonal también se ha asociado con reducción de otras moléculas de adhesión celular¹² y la mejoría del flujo braquial dependiente de la función endotelial en menopáusicas sanas¹³.

La fase temprana de la aterosclerosis involucra la reunión de células inflamatorias de la circulación y de su migración transendotelial. El proceso inicial es mediado en forma predominante por las moléculas de adhesión celular, expresadas por el endotelio vascular, y también sobre los leucocitos circulantes. La VCAM-1 está involucrada en la inducción de la firme adhesión de las células inflamatorias a la superficie vascular¹⁴. Las formas solubles de estas moléculas han sido identificadas en la circulación, pero su origen aún no es bien comprendido. Esta molécula se ha detectado en suero usando

Tabla 1 Características generales de las pacientes en ambos grupos

Promedio $\pm$ desviación estándar	Grupo A Estradiol por vía oral (n = 35)	Grupo B Estradiol transdérmico (n = 35)	p
Edad, años	$52,5 \pm 0,9$	$52,6 \pm 1,1$	ns
Edad al momento de la menopausia, años	$50,1 \pm 1,3$	$49,5 \pm 1,1$	ns
Índice de masa corporal, kg/m^2	$29,1 \pm 1,6$	$28,7 \pm 1,7$	ns
Presión arterial sistólica, mmHg	$128,9 \pm 10,7$	$126,6 \pm 12,6$	ns
Presión arterial diastólica, mmHg	$88,0 \pm 9,3$	$86,7 \pm 8,6$	ns
FSH, mUI/l	$80,1 \pm 20,9$	$82,7 \pm 24,2$	ns
Estradiol, pg/ml	$22,1 \pm 3,8$	$22,5 \pm 4,1$	ns

Tabla 2 Concentraciones de la molécula de adhesión celular vascular-1 antes y después del tratamiento

Promedio $\pm$ desviación estándar	Grupo A Estradiol por vía oral (n = 35)	Grupo B Estradiol transdérmico (n = 35)
<i>Molécula de adhesión celular vascular-1, ng/ml</i>		
Inicial	442,6 $\pm$ 47,9	445,1 $\pm$ 59,9
3 meses	396,8 $\pm$ 40,3*	405,0 $\pm$ 42,8*

* p < 0,05 comparado con los valores iniciales.

las mismas pruebas con anticuerpos monoclonales utilizados para demostrar la presencia en el sobrenadante en cultivos de células activadas^{2,15}. Se ha reportado concentraciones elevadas de VCAM-1 en pacientes con enfermedad cardíaca coronaria, dislipidemia y alteraciones inflamatorias crónicas comparados con sujetos sanos^{15,16}. Los tratamientos cardioprotectores, como las estatinas y los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, se han asociado a una disminución en las concentraciones de las moléculas de adhesión celular^{17,18}. Además, la disminución de las concentraciones de estas moléculas es consistente con la disminución de la activación/lesión de las células endoteliales. Los hallazgos de esta investigación indican un posible efecto benéfico de la terapia de reemplazo hormonal, tanto oral como transdérmico, sobre el endotelio en las mujeres menopáusicas.

Múltiples estudios *in vitro* e *in vivo* indican que los estrógenos modulan la expresión celular inducida por citocinas del VCAM-1 en una forma dependiente de las citocinas¹⁹. Sin embargo, el papel preciso de los estrógenos en la modulación de la expresión de la VCAM-1 en humanos no es completamente comprendido. Investigaciones sobre los efectos a largo plazo de la terapia de reemplazo hormonal en menopáusicas han revelado una asociación entre la administración exógena de estrógenos y la disminución de las concentraciones de las moléculas de adhesión celular, incluyendo la VCAM-1^{6,20}. El gen de transcripción de las moléculas de adhesión celular es regulado por el factor de transcripción nuclear, el cual es activado por las citocinas²¹. Sustancias como el óxido nítrico pueden evitar la activación del factor a través de las lipoproteínas de baja densidad oxidadas o citocinas, y además evitar o atenuar la transcripción y expresión de las moléculas²².

En la menopausia temprana, la terapia de reemplazo hormonal reduce las concentraciones de moléculas de adhesión celular soluble¹². Estudios clínicos controlados han demostrado una disminución significativa en las concentraciones de VCAM-1 después de un corto periodo de administración de estrógenos por vía oral en menopáusicas⁶. En un estudio en mujeres con enfermedad cardíaca coronaria, las concentraciones más altas de VCAM-1 se observaron en las menopáusicas que no utilizaron terapia de reemplazo hormonal comparado con las premenopáusicas y menopáusicas que utilizaban estrógenos por vía oral⁵. Zanger et al.²⁰ demostraron que los estrógenos + progestinas disminuyeron las concentraciones de VCAM-1 después de un mes de

tratamiento comparado con el placebo. Sbarouni et al.²³ reportaron que la combinación de estrógenos y progestinas no produjo disminución en las concentraciones de VCAM-1 después de 2 meses de tratamiento. Chou et al.²⁴ demostraron que ni los estrógenos ni los estrógenos más progestinas disminuyeron las concentraciones de VCAM-1 luego de 21 días de tratamiento.

Con respecto a la vía de administración de los estrógenos, estudios clínicos han demostrado efectos favorables del 17-beta-estradiol transdérmico sobre las concentraciones de VCAM-1 luego de un mes de tratamiento^{4,11}. Sin embargo, ese estudio careció de grupo control y la comparación entre el tratamiento oral y el transdérmico sobre las concentraciones de VCAM-1 no fue establecida. Otro estudio al azar demostró que el 17-beta-estradiol más progesterona por vía oral, y no el estrógeno transdérmico, disminuyó los valores promedios de las moléculas de adhesión celular luego de 6 meses de tratamiento comparado con el placebo⁷. Los hallazgos de la presente investigación demuestran que tanto el estradiol por vía oral, como el transdérmico, producen disminución significativa en las concentraciones de VCAM-1 luego de 3 meses de tratamiento.

Los posibles efectos benéficos de los hallazgos de esta investigación deben ser tomados con cuidado, ya que aunque la terapia de reemplazo hormonal puede reducir la activación y la lesión vascular (mediadas por las moléculas de adhesión celular) en las menopáusicas tratadas, existen otros mecanismos por los cuales la terapia afecta en forma negativa al endotelio vascular. Estos efectos negativos pueden ser mediados por los receptores de estrógenos en las arterias coronarias ateroscleróticas, alterando la función endotelial en el vaso²⁵. Una reducción en los marcadores de lesión endotelial (como lo es la VCAM-1) podría manifestarse como una mejoría en la función endotelial en las menopáusicas sanas, pero no en las mujeres con enfermedad cardíaca coronaria.

Conclusión

Se concluye que el uso de estradiol transdérmico puede ser una alternativa eficaz al uso de estradiol por vía oral después de 3 meses de uso, debido a que ambos compuestos producen disminución significativa de las concentraciones de la VCAM-1.

Responsabilidades éticas

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA*. 2005;294:326–33.
- Zerwes HG, Peter JC, Link M, Gubler H, Scheel G. A multiparameter screening assay to assess the cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Anal Biochem*. 2002;304:166–73.
- Liakopoulos V, Eleftheriadis T, Kyropoulos T, Voliotis G, Potamianos S, Zengos N, et al. Hemodialysis procedure does not affect the levels of sICAM-1 and sVCAM-1 in patients with end stage renal disease. *Ren Fail*. 2005;27:315–21.
- Yeboah J, Klein K, Brosnihan B, Reboussin D, Herrington DM. Effects of hormone therapy on soluble cell adhesion molecules in postmenopausal women with coronary artery disease. *Menopause*. 2008;15:1060–4.
- Caulin-Glaser T, Farrell WJ, Pfau SE, Zaret B, Bunger K, Setaro JF, et al. Modulation of circulating cellular adhesion molecules in postmenopausal women with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:1555–60.
- Saitta A, Altavilla D, Cucinotta D, Morabito N, Frisina N, Corrado F, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study on effects of raloxifene and hormone replacement therapy on plasma nitric oxide concentrations, endothelin-1 levels, and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1512–9.
- Scarabin PY, Alhenc-Gelas M, Oger E, Plu-Bureau G. Hormone replacement therapy and circulating ICAM-1 in postmenopausal women —a randomised controlled trial. *Thromb Haemost*. 1999;81:673–5.
- Weiss AM. Cardiovascular disease in women. *Prim Care*. 2009;36:73–102.
- Kawano H, Motoyama T, Hirai N, Yoshimura T, Kugiyama K, Ogawa H, et al. Effect of medroxyprogesterone acetate plus estradiol on endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 2001;87:238–40.
- Sendag F, Karadadas N, Ozsener S, Bilgin O. Effects of sequential combined transdermal and oral hormone replacement therapies on serum lipid and lipoproteins in postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet*. 2002;266:38–43.
- Yasui T, Saijo A, Uemura H, Matsuzaki T, Tsuchiya N, Yuzurihara M, et al. Effects of oral and transdermal estrogen therapies on circulating cytokines and chemokines in postmenopausal women with hysterectomy. *Eur J Endocrinol*. 2009;161:267–73.
- Lamon-Fava S, Posfai B, Schaefer EJ. Effect of hormonal replacement therapy on C-reactive protein and cell-adhesion molecules in postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 2003;91:252–4.
- Guzic-Salobir B, Keber I, Seljeflot I, Arnesen H, Vrabec L. Combined hormone replacement therapy improves endothelial function in healthy postmenopausal women. *J Intern Med*. 2001;250:508–15.
- Mousa SA. Cell adhesion molecules: Potential therapeutic and diagnostic implications. *Methods Mol Med*. 2004;93:157–74.
- Li M, Chen J, Li YS, Feng YB, Gu X, Shi CZ. Folic acid reduces adhesion molecules VCAM-1 expression in aortic of rats with hyperhomocysteinemia. *Int J Cardiol*. 2006;106:285–8.
- Lim HS, Chong AY, Freestone B, Blann AD, Lip GY. The effect of multi-factorial intervention on plasma von Willebrand factor, soluble E-selectin and tissue factor in diabetes mellitus: Implications for atherosclerotic vascular disease. *Diabet Med*. 2005;22:249–55.
- Graninger M, Reiter R, Drucker C, Minar E, Jilka B. Angiotensin receptor blockade decreases markers of vascular inflammation. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44:335–9.
- Ferrario CM, Strawn WB. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease. *Am J Cardiol*. 2006;98:121–8.
- Koga T, Kwan P, Zubik L, Ameho C, Smith D, Meydani M. Vitamin E supplementation suppresses macrophage accumulation and endothelial cell expression of adhesion molecules in the aorta of hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*. 2004;176:265–72.
- Zanger D, Yang BK, Ardans J, Wacławski MA, Csako G, Wahl LM, et al. Divergent effects of hormone therapy on serum markers of inflammation in postmenopausal women with coronary artery disease on appropriate medical management. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:1797–802.
- Liu H, Liu K, Bodenner DL. Estrogen receptor inhibits interleukin-6 gene expression by disruption of nuclear factor kappaB transactivation. *Cytokine*. 2005;31:251–7.
- Park SK, Yang WS, Han NJ, Lee SK, Ahn H, Lee IK, et al. Dexamethasone regulates AP-1 to repress TNF-alpha induced MCP-1 production in human glomerular endothelial cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19:312–9.
- Sbarouni E, Kroupis C, Kyriakides ZS, Koniavitu K, Kremastinos DT. Cell adhesion molecules in relation to simvastatin and hormone replacement therapy in coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2000;21:975–80.
- Chou ET, Schulman SP, Thiemann DR, Sohn RH, Bellantoni MF, Rade JJ. Effect of short-term estrogen with and without progesterone therapy on circulating markers of endothelial activation and injury in postmenopausal women with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 2003;91:1240–2.
- Christian RC, Liu PY, Harrington S, Ruan M, Miller VM, Fitzpatrick LA. Intimal estrogen receptor (ER)beta, but not ERalpha expression, is correlated with coronary calcification and atherosclerosis in pre- and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:2713–20.