

## Efecto de diosgenina sobre la proteína C reactiva y homocisteína en pacientes menopáusicas

E. Reyna-Villasmil, J. Mejía, N. Reyna-Villasmil, D. Torres, E. Peña, M. Colmenares, O. Delgado y J. Santos

Servicio de Obstetricia y Ginecología. Maternidad Dr. Nerio Bellosó. Hospital Central Dr. Urquinaona. Maracaibo (Estado Zulia). Venezuela.

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate homocysteine and C-reactive protein concentrations in postmenopausal women treated with diosgenin as an alternative to hormone replacement therapy. An explanatory, prospective and longitudinal study was performed with a quasi-experimental design and non-probabilistic sampling of 49 patients who attended the menopause clinic of the Dr. Urquinaona General Hospital. Homocysteine and C-reactive protein concentrations were determined before and after 6 months of treatment with diosgenin.

The mean age of the postmenopausal women was  $51.6 \pm 2.9$  years. Age at menopause onset was  $44.6 \pm 2.1$  years and the time from menopause was  $45.7 \pm 18.4$  months. C-reactive protein concentrations were increased by more than 56% at 6 months of treatment compared with initial concentrations ( $P < .05$ ). Plasma homocysteine concentrations slightly decreased (by more than 5%, approximately) compared with initial concentrations ( $P = NS$ ). We conclude that diosgenin significantly increases C-reactive concentrations, without modifying plasma homocysteine concentrations after 6 months of treatment.

### INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardíaca coronaria es la causa de defunción más común en los países industrializados de Occidente<sup>1</sup>. Desde principios de los años sesenta se reconoce que la disminución de la producción de estrógenos por parte de los ovarios, posterior a la menopausia, natural o quirúrgica, causa los cambios ateroscleróticos en los vasos sanguíneos<sup>1-3</sup>.

Aceptado para su publicación el 6 de noviembre de 2007.

Estudios de casos y controles evidencian que la terapia hormonal de reemplazo (THR) continua con estrógenos puede disminuir dramáticamente el riesgo de enfermedad cardiovascular y defunción por eventos cardíacos<sup>4</sup>. En tal sentido, el reemplazo de estrógenos parecía ser especialmente efectivo en pacientes que ya presentaban afecciones coronarias. Sin embargo, hallazgos en otros estudios demostraron lo contrario<sup>2,5,6</sup>.

La aterosclerosis está asociada con la inflamación crónica y adhesión entre las células del endotelio de la pared vascular y los leucocitos circulantes, los cuales desempeñan un papel importante en los eventos inflamatorios<sup>6,7</sup>. La mayoría de las formas de inflamación dentro del tejido dañado produce aumento en la concentración del reactante de fase aguda: la proteína C reactiva (PCR)<sup>8</sup>. A su vez, puede actuar como un procoagulante debido a que induce la expresión del factor tisular de monocitos, que desempeña un papel importante en la aterosclerosis<sup>9</sup>. Aunque el mecanismo subyacente que activa la inflamación es desconocido, la elevación de las concentraciones de PCR, en el contexto de la enfermedad cardiovascular, está involucrada en la fisiopatología de la progresión de la aterosclerosis y sus complicaciones<sup>9,10</sup>. En consecuencia, la elevación de los valores de PCR se observa en pacientes con infarto de miocardio, angina inestable y angina estable crónica<sup>6,11,12</sup>. También es un factor de riesgo independiente en varones con y sin enfermedad cardíaca coronaria y en mujeres menopáusicas sin evidencia clínica de la enfermedad<sup>13</sup>.

La elevación de las concentraciones plasmáticas de homocisteína es un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular. Las concentraciones de homocisteína total son mayores en las mujeres menopáusicas que en las premenopáusicas<sup>14</sup> y se ha demostrado que la THR disminuye sus valores<sup>15-17</sup>. Sin embargo, los estrógenos afectan a los parámetros

de la coagulación, incrementando el riesgo de trombosis<sup>18</sup> y de los marcadores de inflamación, lo cual puede aumentar el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria<sup>17-23</sup>.

Se ha evidenciado la disminución de las concentraciones de homocisteína plasmática en pacientes tratadas con alimentos derivados de la soja<sup>24,25</sup>. Sin embargo, no se observaron variaciones en los valores de PCR en mujeres menopáusicas tratadas con productos derivados de la soja<sup>24</sup> o isoflavonas<sup>26</sup>. Al mismo tiempo, los reportes obtenidos sobre los efectos de las saponinas sobre la homocisteína y la PCR sérica son muy escasos en mujeres menopáusicas y más aún los efectos de la diosgenina.

El objetivo del estudio fue investigar los efectos de la diosgenina en las concentraciones de homocisteína y PCR en mujeres menopáusicas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una investigación de tipo explicativa, prospectiva y longitudinal, con un diseño cuasi experimental y un muestreo no probabilístico de 49 pacientes que asistieron a la consulta de menopausia del Hospital Central Dr. Urquiza.

Se incluyó a mujeres menopáusicas sanas, con edades comprendidas entre los 45 y los 60 años, con ausencia de menstruaciones en los 12 meses previos al inicio del estudio y que presentaron valores de hormona foliculostimulante > 50 U/l y de estradiol < 35 mg/dl. Se excluyó del estudio a las mujeres menopáusicas con anomalías clínicas o de laboratorio que sugieran alteraciones cardiovasculares, hepáticas o renales, con antecedentes de coagulopatías, uso de estrógenos, andrógenos o progestágenos orales o transdérmicos en los 6 meses previos al estudio y hábito tabáquico de más de 10 cigarrillos al día. Al inicio de la investigación se realizó un cuestionario clínico donde se incluyeron los antecedentes familiares, el examen físico y los resultados de laboratorio (química y hematología) y del electrocardiograma.

Las mujeres menopáusicas fueron tratadas con tabletas comerciales de ñame salvaje 170 mg (el productor de la cápsula reporta que la concentración de diosgenina es mayor del 95%) 3 veces al día durante 6 meses. A todas las participantes se les tomó una muestra inicial de suero para determinar los valores basales de la homocisteína y la PCR y se repitió a los 6 meses. Las muestras de suero de todas las participantes se obtuvieron en ayunas para reducir los efectos de los alimentos. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta el momento de la prueba. La PCR y la homocisteína se midieron mediante radioinmunoensa-

yo. Los coeficientes de variación intra e interensayos fueron menores del 5%.

Los datos se presentan como promedio  $\pm$  desviación estándar. Para el análisis estadístico de las diferencias en las concentraciones iniciales y después de 6 meses de tratamiento se utilizó la prueba de la t de Student para las muestras dependientes o relacionadas. El porcentaje de cambio (en comparación al inicio) en las concentraciones (conc) del parámetro se calculó como:

$$[(\text{Conc 6 meses}) - (\text{conc inicial}) / (\text{conc inicial})] \times 100$$

Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Se seleccionó a un total de 49 pacientes, con una edad promedio  $\pm$  desviación estándar de las mujeres menopáusicas de  $51,6 \pm 2,9$  años (rango, 45-55 años); la edad de aparición de la menopausia fue de  $44,6 \pm 2,1$  años (rango, 37-54 años) y el tiempo desde la menopausia fue de  $45,7 \pm 18,4$  meses. En la tabla I se muestran las características clínicas y de laboratorio al inicio del estudio.

En la tabla II se presentan las variaciones en las concentraciones de PCR. Se encontró un incremento de más del 56% en comparación con las concentraciones iniciales de PCR a los 6 meses de tratamiento. La diferencia se consideró estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Después de 6 meses de tratamiento (tabla II), las concentraciones de homocisteína plasmática experimentaron una ligera disminución (aproximadamente > 5% comparado con las concentraciones iniciales), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p = \text{NS}$ ).

TABLA I. Características clínicas y de laboratorio al inicio del estudio

	N = 49
Edad (años)	51,6 $\pm$ 2,9
Edad de aparición de la menopausia (años)	44,6 $\pm$ 2,1
Tiempo de menopausia (meses)	45,7 $\pm$ 18,4
Índice de masa corporal	26,4 $\pm$ 7,1
Presión arterial sistólica (mmHg)	117,2 $\pm$ 11,0
Presión arterial diastólica (mmHg)	76,1 $\pm$ 5,1
FSH (mU/l)	80,1 $\pm$ 40,4
Estradiol (pg/ml)	21,6 $\pm$ 6,7

FSH: hormona foliculostimulante.

Los valores se presentan como media  $\pm$  desviación estándar.

**TABLA II. Concentraciones de proteína C reactiva y homocisteína antes y después de 6 meses de tratamiento con diosgenina**

	ANTES DEL TRATAMIENTO	DESPUÉS DEL TRATAMIENTO	P
	(N = 49)	(N = 49)	
Proteína C reactiva (mg/dl)	0,66 ± 0,33	1,16 ± 0,22	< 0,05
Homocisteína (pmol/l)	11,31 ± 0,31	10,72 ± 0,45	NS

Los valores se presentan como media ± desviación estándar.

## DISCUSIÓN

En esta investigación se empleó diosgenina (una dosis total de 510 mg/día), que demostró que tiene un efecto importante en las concentraciones de PCR y no produce modificaciones en las concentraciones de homocisteína, a diferencia de lo reportado para la soja<sup>24</sup>, isoflavonas<sup>26</sup> y genisteína<sup>27</sup>. Según los resultados del estudio, luego de 6 meses de tratamiento las concentraciones de PCR presentan un incremento significativo y similar a la THR, que se ha reportado previamente<sup>17</sup>. El efecto de la diosgenina en la PCR fue similar en tiempo y magnitud al reportado por otros investigadores con el uso de estrógenos<sup>28,29</sup>.

La elevación de la PCR está relacionada con un incremento del riesgo cardiovascular y puede ser una de las posibles explicaciones de la enfermedad cardíaca coronaria y de tromboembolias venosas en pacientes tratados con THR<sup>18,30</sup>. Diferentes estudios han demostrado una disminución de las concentraciones de algunos marcadores de riesgo vascular (como selectina E y fibrinógeno) después de la THR en mujeres menopáusicas<sup>31,32</sup>. El incremento de la PCR y la disminución de las concentraciones plasmáticas de todos los otros marcadores de riesgo vascular sugieren que el incremento de la PCR puede estar relacionado con la activación metabólica hepática y no con una respuesta de fase aguda<sup>32</sup>. El escaso efecto de la THR transdérmica (el cual no tiene el efecto del primer paso hepático) en los valores de PCR puede apoyar esta hipótesis<sup>33-35</sup>. Este resultado, similar al de la THR oral, parece relacionarse con los estrógenos o las progestinas utilizados<sup>22,26,33,35,36</sup>. Sin embargo, se necesitan estudios mayores para establecer si los hallazgos de esta investigación persisten por un tiempo aún más largo.

El mecanismo por el cual la THR y la diosgenina aumentan los valores séricos de PCR en las mujeres menopáusicas no está claro. La PCR se produce en el hígado y el principal regulador de su síntesis son las citocinas proinflamatorias, como la interleucina 6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral y la IL-1, por lo

que se puede pensar que la administración de estrógenos y andrógenos aumenta la actividad de las citocinas inflamatorias<sup>37,38</sup>. Un estudio en mujeres menopáusicas no encontró un efecto significativo de los estrógenos sin oposición o combinados en los valores de IL-6 y fibrinógeno, esta última sintetizada igual que la PCR por el hígado bajo el control de las citocinas proinflamatorias<sup>39</sup>. Se ha reseñado en múltiples investigaciones que la THR aumenta tanto la IL-6 como la PCR en las mujeres menopáusicas con enfermedad cardíaca coronaria<sup>40</sup>. Un estudio controlado demostró que el tratamiento con la combinación estradiol-acetato de norestisterona lleva a un pequeño pero significativo aumento de la IL-6 y del antagonista del receptor de la IL-1, pero no de la IL-1, lo cual contrasta con la reducción de la producción de IL-6 por los estrógenos *in vitro*<sup>41</sup>.

Esto llevaría a pensar que los efectos progestagénicos del tratamiento con diosgenina produzca un ligero incremento de las citocinas proinflamatorias, aunque se ha sugerido que las progestinas pueden tener algún efecto antiinflamatorio<sup>38</sup>.

Varios estudios refieren que la THR en la forma de estradiol oral sin oposición, estrógenos equinos conjugados o combinaciones de estrógenos y progesterona aumenta los valores séricos de PCR durante la menopausia<sup>2,17,46-49</sup>. En la actualidad se ha reportado que el estradiol oral y transdérmico en mujeres menopáusicas sanas tienen diferentes efectos sobre el factor 1 similar a la insulina, el cual, como la PCR, es principalmente sintetizado por el hígado<sup>50</sup>. Se debe hacer notar, sin embargo, que la administración de pequeñas dosis (1 mg) de estradiol por vía oral puede no afectar a los valores de PCR<sup>39</sup>. Por lo tanto, es posible que los efectos de la diosgenina en la PCR sérica se deban al efecto hepático y se necesitan estudios adicionales para aclarar esta hipótesis.

Se ha descrito que la progesterona micronizada y la trimegestona no afectan al porcentaje de cambio de la PCR durante la THR<sup>39,46,48,49</sup>, lo que sugiere que los efectos de la THR en este marcador de la inflamación son principalmente mediados por la activación de los receptores de estrógenos y no es alterada por las progestinas. El efecto de la adición de acetato de medroxiprogesterona aún no está claro; en algunos estudios no produce alteraciones, en otros disminuye la elevación inducida por los estrógenos<sup>51</sup>. No se debe olvidar que algunas progestinas tienen un efecto pro o antiinflamatorio per se.

Las implicaciones clínicas de las concentraciones elevadas de PCR en usuarias de diosgenina no están claras. El aumento espontáneo de los valores de PCR, aun en rangos normales, está asociado al aumento en

el riesgo de eventos cardiovasculares en sujetos aparentemente sanos<sup>13</sup>. Sin embargo, las consecuencias farmacológicas del aumento de la PCR pueden ser diferentes de las de la elevación espontánea. Las estatinas, que son efectivas para reducir el riesgo de accidente cerebrovascular, reducen los valores séricos de PCR en sujetos sanos y en pacientes con enfermedad cardiovascular<sup>42,43</sup>, por lo que se puede pensar que el incremento de la PCR inducido por la diosgenina puede llevar a un incremento en el riesgo de eventos cardiovasculares.

También se ha demostrado que el estradiol aumenta transitoriamente la presencia de E-selectina inducida por el factor de necrosis tumoral, la molécula tipo 1 de adhesión de las células vasculares y la molécula tipo 1 de adhesión intracelular<sup>45</sup>.

Los valores plasmáticos de homocisteína, luego de 6 meses de tratamiento, no presentaron modificaciones significativas. Estos datos son diferentes a estudios previos realizados en mujeres menopáusicas que utilizaron compuestos con soja<sup>25</sup> o THR<sup>15-17,36,48</sup>, en los cuales se observó una reducción significativa, similar a la de un estudio más reciente en el cual se utilizaron estrógenos y acetato de noretisterona<sup>17,52</sup>.

En conclusión, la diosgenina produce un aumento significativo en la concentración de PCR y no produce modificaciones en las concentraciones plasmáticas de homocisteína a los 6 meses de tratamiento.

## RESUMEN

El objetivo fue investigar las concentraciones de homocisteína y proteína C reactiva en pacientes menopáusicas tratadas con diosgenina como alternativa a la terapia de reemplazo hormonal. Se realizó una investigación de tipo explicativa, prospectiva y longitudinal, con un diseño cuasi experimental y un muestreo no probabilístico de 49 pacientes que asistieron a la consulta de menopausia del Hospital Central Dr. Urquinaona. Se determinaron las concentraciones de homocisteína y proteína C reactiva antes y después de 6 meses de tratamiento con diosgenina. El promedio  $\pm$  desviación estándar de las mujeres menopáusicas fue de  $51,6 \pm 2,9$  años; la edad  $\pm$  desviación estándar de aparición de la menopausia fue de  $44,6 \pm 2,1$  años y el tiempo desde la menopausia fue de  $45,7 \pm 18,4$  meses. Se encontró un incremento de más del 56% en la concentración de proteína C reactiva a los 6 meses de tratamiento en comparación con las concentraciones iniciales ( $p < 0,05$ ). Las concentraciones de homocisteína plasmática presentaron

una ligera disminución (aproximadamente mayor del 5%) comparadas con las concentraciones iniciales ( $p = NS$ ). Se concluye que la diosgenina produce aumento significativo en la concentración de proteína C reactiva sin inducir modificaciones en las concentraciones plasmáticas de homocisteína luego de 6 meses de tratamiento.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Castelli W. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis*. 1996;124:S1-9.
2. Ridker P, Stampfer M, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein (a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*. 2001;285:2481-5.
3. Adlercreutz H. Western diet and Western diseases: some hormonal and biochemical mechanism and associations. *Scand J Clin Lab Invest*. 1990;50:2-23.
4. Ridker P, Cushman M, Stampfer M, Tracy R, Hennekens C. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-9.
5. Ridker P, Hennekens C, Buring J, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000;342:836-43.
6. Ridker P, Rifai N, Rose L, Buring J, Cook N. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002;347:1557-65.
7. Tracy R, Lemaitre R, Psaty B, Ives D, Evans R, Cushman M. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:1121-7.
8. Mosca L. C-reactive protein-to screen or not to screen. *N Engl J Med*. 2002;347:1615-7.
9. Koenig W, Sund M, Froelich M, Fischer H, Lowe IH, Doring A. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease), Augsburg Cohort Study, 1984-1992. *Circulation*. 1999;99:237-42.
10. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ*. 2000;321:199-204.
11. Ridker P. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103:1813-8.
12. Albert C, Ma J, Rifai N, Stampfer M, Ridker P. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation*. 2002;105:2595-9.
13. Mendall M, Strachan D, Butland B, Ballam L, Morris J, Sweetnam P. C-reactive protein: relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. *Eur Heart J*. 2000;21:1584-90.
14. Hak A, Polderman K, Westendorp I, Jacobs C, Hofman A, Witteman J. Increase of plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis*. 2000;149:163-8.
15. Hak A, Bak A, Lindemans J, Planellas J, Binnink H, Hofman A. The effect of hormone replacement therapy on se-

- rum homocysteine levels in perimenopausal women: a randomized controlled trial. *Atherosclerosis*. 2001;158:437-43.
16. Madsen J, Kristensen S, Klitgaard N, Bladbjerg E, Abrahamsen B, Stilgren L. Effect of long-term hormone replacement therapy on plasma homocysteine in postmenopausal women: a randomized controlled study. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187:33-9.
  17. Reyna-Villasmil E, Torres-Montilla M, Reyna-Villasmil N, Mejía-Montilla J. Terapia hormonal de reemplazo y niveles plasmáticos de homocisteína y proteína C reactiva. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2003;63:95-100.
  18. Rossouw J, Anderson J, Prentice R, LaCroix A, Kooperberg C, Stefanick M. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002;288:321-33.
  19. Molina R. Terapia de reemplazo hormonal para las posmenopáusicas después del ensayo WHI. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2002;62:229-33.
  20. Palacios A. Efecto de la terapia hormonal de reemplazo sobre la enfermedad vascular aterosclerótica. En: Terán Dávila J, Febres-Balestrini F, editores. *Medicina del climaterio y la menopausia*. Caracas: Editorial Ateproca; 1999. p. 279-90.
  21. Febres Balestrini F, Terán Dávila J. Enfermedad cardiovascular aterosclerótica en la mujer posmenopáusica. En: Terán Dávila J, Febres Balestrini F, editores. *Medicina del climaterio y la menopausia*. Caracas: Editorial Ateproca; 1999. p. 123-31.
  22. Pradhan A, Manson J, Rossouw J, Siscovick D, Mouton C, Rifai N. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from women's health initiative observational study. *JAMA*. 2002;288:980-87.
  23. Beral V. Breast cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*. 2003;362:419-27.
  24. Jenkins D, Kendall C, Connelly P, Parker T, Faulkner D, Jackson C. Effects of high-and low- isoflavone (phytoestrogen) soy foods inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. *Metabolism*. 2002;51:918-24.
  25. Jenkins D, Kendall C, Jackson C, Connelly P, Parker T, Faulkner D. Effects of high-and low-isoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr*. 2002;76:365-72.
  26. Nikander E, Metsa-Heikkilä M, Tiitinen A, Ylikorkala O. Evidence of a lack effect of a phytoestrogen regimen on the levels of C-reactive protein, E-selectin, and nitrate in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:5180-5.
  27. D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Cancellieri F, Crisafulli A, Squadrito F. The effect of the phytoestrogen genistein and hormone replacement therapy on homocysteine and C-reactive protein level in postmenopausal women. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005;84:474-7.
  28. Caulin-Glaser T, Watson C, Pardi R, Bender J. Effects of 17 $\beta$  estradiol on cytokine-induced endothelial molecule expression. *J Clin Invest*. 1996;98:36-42.
  29. Giltay E, Gooren L, Emeis J, Kooistra T, Stehouwer C. Oral ethinylestradiol, but not transdermal estradiol, increases plasma C-reactive protein level in men. *Thromb Haemost*. 2000;84:359-60.
  30. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up (HERS II). Cardiovascular disease outcomes during 6-8 years of hormone therapy. *JAMA*. 2002;288:49-57.
  31. Stork S, Von Schacky C, Angerer P. The effect of 17-beta-estradiol on endothelial and inflammatory markers in postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *Atherosclerosis*. 2002;165:301-7.
  32. Silvestri A, Gebara O, Vitale C, Waingarten M, Leonardo F, Ramires J. Increased levels of C-reactive protein after oral hormone replacement therapy may not be related to an increased inflammatory response. *Circulation*. 2003;107:3165-9.
  33. Strandberg T, Ylikorkala O, Tikkanen M. Differing effects of oral and transdermal hormone replacement therapy on cardiovascular risk factors in healthy postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 2003;92:912-4.
  34. Davison S, Davis S. New markers for cardiovascular disease risk in women: impact of endogenous estrogen status and exogenous postmenopausal hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2470-8.
  35. Yilmazer M, Fenkci V, Fenkci S, Sonmezer M, Aktepe O, Altindis M. Hormone replacement therapy, C-reactive protein, and fibrinogen in healthy postmenopausal women. *Maturitas*. 2003;46:245-53.
  36. Vongpatanasin W, Tuncel M, Wang Z, Arbique D, Mehrad B, Jialal I. Differential effects of oral vs. transdermal estrogen replacement therapy on C-reactive protein in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1358-63.
  37. De Maat M, Pietersma A, Kofflard M, Sluiter W, Kluft C. Association of plasma fibrinogen levels with coronary artery disease, smoking and inflammatory markers. *Atherosclerosis*. 1996;121:185-91.
  38. Pfeilschifter J, Köditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokines activity after menopause. *Endocr Rev*. 2002;23:90-119.
  39. Van Baal W, Kenemans P, Van der Mooren M, Kessel H, Emeis J, Stehouwer C. Increased C-reactive protein levels during short-term hormone replacement therapy in healthy postmenopausal women. *Thromb Haemost*. 1999;81:925-8.
  40. Zanger D, Yang B, Ardans J, et al. Divergent effects of hormonal 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.
  41. Abrahamsen B, Bonnevie-Nielsen V, Ebbesen E, Gram J, Beck-Nielsen H. Cytokines and bone loss in a 5-year longitudinal study-hormone replacement therapy suppresses serum soluble interleukin-6 receptor and increases interleukin-1-receptor antagonist: the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Bone Miner Res*. 2000;15:1545-54.
  42. Albert M, Danielson E, Rifai N, Ridker P. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels. *J Am Med Assoc*. 2001;286:64-70.
  43. Byington R, Davis B, Plehn J, et al. Reduction of stroke events with pravastatin: the prospective pooling (PP P) project. *Circulation*. 2001;103:387-92.
  44. Koh K, Schenke W, Waclawiw M, Csako G, Cannon R. Statin attenuates increase in C-reactive protein during estrogen replacement therapy in postmenopausal women. *Circulation*. 2002;105:1531-3.
  45. Zhang X, Wang L, Jiang T, et al. Effects of testosterone and 17 estradiol on TNF-alpha induced E-selectin and VCAM-1 expression in endothelial cells. Analysis of the underlying receptor pathways. *Life Sci*. 2002;71:15-29.
  46. Cushman M, Legault C, Barrett-Connor E, et al. Effect of post menopausal hormones on inflammation sensitive proteins. The PEPI study. *Circulation*. 1999;100:717-22.
  47. Cushman M, Meilahn E, Psaty B, Kuller L, Dobs A, Tracy R. Hormone replacement therapy, inflammation and home-

- ostasis in elderly women. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:893-9.
48. Van Baal W, Smolders R, Van der Mooren M, Teerlink T, Kenemans P. Hormone replacement therapy and plasma homocysteine levels. *Obstet Gynecol.* 1999;94:485-91.
49. Walsh B, Paul S, Wild R, et al. The effects of hormone replacement therapy and roloxifene on C-reactive protein and homocysteine in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:214-8.
50. Garnero P, Tsouderos Y, Marton I, Pelissier C, Varin C, Delmas P. Effects of intranasal 17 beta- estradiol on bone turnover and serum insulin-like growth factor I in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2390-7.
51. Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N, Fukaya T. Effect of medroxyprogesterone acetate on vascular inflammatory markers in postmenopausal women receiving estrogen. *Circulation.* 2002;105:1439-49.
52. Evio S, Tiitinen A, Turpeinen U, Ylikorkala O. Failure of the combination of sequential oral and transdermal estradiol plus norethisterone acetate to affect plasma homocysteine levels. *Fertil Steril.* 2000;74:1080-3.