

Revisión

M.C. García-Martínez
C. Hermenegildo^a
A. Cano

99

Metabolismo lipídico y aterogénesis femenina: acción de hormonas, SERM y fitoestrógenos

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología.
Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia.
^aUnidad Mixta de Investigación.
Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Correspondencia:
Dr. A. Cano.
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología.
Facultad de Medicina y Odontología.
Avda. Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia.
Correo electrónico: antonio.cano@uv.es

Fecha de recepción: 11/12/00
Aceptado para su publicación: 7/2/01

Lipid metabolism and female atherogenesis. The action of hormones, SERMs and phytoestrogens

M.C. García-Martínez, C. Hermenegildo, A. Cano. Metabolismo lipídico y aterogénesis femenina: acción de hormonas, SERM y fitoestrógenos. *Prog Obstet Ginecol* 2001;44:99-107.

RESUMEN

Objetivo: Revisar los efectos de la terapia hormonal sustitutiva, en sus distintas formas, en el metabolismo lipídico.

Fuentes: Bibliografía médica hasta septiembre del año 2000 a través de MEDLINE.

Conclusiones: Los estrógenos, combinados o no con progestágenos, inducen un perfil lipoproteico favorable. Buena parte de esa acción se ejerce a través de modificación en la cinética de partículas. Las acciones sobre oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), o el tamaño de sus partículas, son motivo de polémica. Nuevos preparados, con capacidad de activar receptores estrogénicos, también demuestran ejercer acciones selectivas sobre el metabolismo lipídico.

Este trabajo ha sido financiado en parte por las ayudas 1FD97-1035-C02-01 (CICYT, Ministerio de Educación y Cultura y Unión Europea), GV99-6-1-04 (Generalitat Valenciana) y 00/0960 (FIS, Ministerio de Sanidad y Consumo).

PALABRAS CLAVE

Enfermedad cardiovascular. Hormonas. LDL oxidada. Tamaño de LDL. Menopausia.

ABSTRACT

Objective: To review the effects of the distinct forms of hormone replacement therapy on lipid metabolism.

Data sources: The medical literature up to September 2000, reviewed through Medline.

Conclusions: Estrogens, alone or combined with progestagens, induce a favorable lipoprotein profile. A major part of that action is exerted through modification in the kinetics of particles. The actions on LDL oxidation, or on the size of its particles, are debatable. New compounds, able to activate estrogen receptors, also demonstrate selective actions on lipid metabolism.

100 KEY WORDS

Cardiovascular disease. Hormones. Oxidized LDL. LDL size. Menopause.

INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, las evidencias procedentes de estudios epidemiológicos han hecho que se preconice el uso de estrógenos para prevenir la enfermedad cardíaca coronaria (ECC) en la mujer¹. Se conoce desde hace años que los estrógenos retardan la aterogénesis en modelos animales², aunque el mecanismo por el que lo consiguen es desconocido. Entre las propuestas planteadas cabe destacar un cambio favorable del perfil lipídico por el descenso de los valores de colesterol y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y, frecuentemente, un aumento de las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL)³; una disminución de la expresión de moléculas de adherencia responsables de la unión de monocitos a células endoteliales y de moléculas quimiotácticas relacionadas con migración de monocitos al espacio subendotelial⁴, y la modificación del comportamiento de vasos aterocleróticos promoviendo su dilatación, potenciada por el aumento de la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS), enzima que da lugar al óxido nítrico (ON)⁵.

PAPEL DE LOS ESTRÓGENOS

Terapia con estrógenos y perfil lipídico

La administración de estrógenos en la mujer hipogonádica, sobre todo si se utiliza la vía oral, se asocia con un patrón lipídico favorable. Este efecto estrogénico se ha atribuido a la activación de varios mecanismos. Uno de ellos está ligado al aumento de la depuración hepática de LDL a través del incremento en la síntesis de receptores para la apoproteína (Apo) B-E, y a una mayor actividad de éstos⁶. Éste es un mecanismo de considerable complejidad, que ha sido aclarado a través de experiencias realizadas en los últimos años.

Concretamente, estudios de cinética de partículas han demostrado, sin lugar a dudas, que los estrógenos potencian la síntesis de partículas de lipoproteí-

nas de muy baja densidad (VLDL) que, en buena medida, son recaptadas a través de una regulación al alza de sus receptores en el hígado⁶. El resto de las partículas sufre un proceso de reducción en los tejidos periféricos, donde se ven despojadas de parte de su componente lipídico que es utilizado como fuente energética. Quedan, así, reducidas en su tamaño, originando sucesivamente partículas de densidad intermedia (IDL) y LDL. Al ser recaptada la mayoría de la VLDL que aumentó por la acción estrogénica, la fracción de VLDL que resulta reducida en su tamaño y acaba originando LDL es pequeña, aunque real. Podría, por tanto, concluirse que debería observarse un incremento en la concentración de LDL como resultado de la acción estrogénica. Sin embargo, éste no es el caso, pues paralelamente, como se ha mencionado anteriormente, los estrógenos aumentan la población de receptores de LDL en las células diana. El balance final, por consiguiente, es una reducción concomitante de los valores circulantes de partículas de LDL.

Probablemente este aumento de la captación de LDL comporte también una inhibición de la actividad de la hidroxi-metil-glutaril-CoA-reductasa, con el consiguiente freno a la síntesis endógena de colesterol. Otra posible acción concomitante es la activación de la lipoproteinlipasa (LpL), que parece estar bloqueada en situaciones de hipoestrogenismo, condicionando un aumento de LDL⁷.

Estos efectos de los estrógenos, sin embargo, quedan parcialmente mitigados cuando hablamos de la acción que cabe esperar de las hormonas endógenas, y resultan mucho más claros cuando se analiza, lo que ocurre con la administración de hormonas exógenas por vía oral⁸. Por tanto, se trata de un efecto particularmente palpable cuando nos referimos a dosis farmacológicas, como las que llegan al hígado durante la estrogenoterapia oral. Este hallazgo ha llevado a muchos investigadores a ser críticos con la trascendencia que estas observaciones puedan tener en la mujer premenopáusica, o en la postmenopáusica tratada con estrógenos a partir de una vía no oral.

Otro efecto íntimamente ligado con el nivel estrogénico es la inducción de cambios en los valores de HDL. Distintos autores han encontrado descensos en los valores de HDL después de la menopausia. Matthews et al⁹ realizaron un estudio con 541 mujeres sanas premenopáusicas durante 2 años y medio, período en el que 65 mujeres experimentaron una

menopausia natural. Este grupo se comparó con las demás mujeres del estudio, que seguían menstruando regularmente. Como resultado se obtuvo un descenso significativo de la fracción de HDL en mujeres que habían pasado al estado posmenopáusico. De acuerdo con ello, el aporte estrogénico por vía oral produce un incremento en las concentraciones circulantes de HDL, sobre todo de la fracción HDL₂³. Se trata de una acción que resulta de la implicación de distintos mecanismos, siendo los principales la estimulación de síntesis de la Apo A-I, la inhibición de la lipasa hepática, claro agente reductor de HDL circulante, y la buena oferta de colesterol y fosfolípidos desestructurados en los tejidos periféricos como consecuencia de la acción de la LpL¹⁰. Este aumento, en consonancia con lo manifestado en secciones anteriores, puede ejercer múltiples efectos beneficiosos, incluyendo una disminución de la oxidación de LDL¹¹.

La administración de estrógenos es también seguida de un aumento en la concentración de triglicéridos (TG), que se interpreta como consecuencia del aumento de VLDL. En contraste con la hipertrigliceridemia endógena, se supone que la producida por estrógenos no tiene efectos aterogénicos ya que, como se ha comentado anteriormente, las VLDL son eliminadas de forma rápida de la circulación, a partir de receptores específicos en el hígado⁶. Del mismo modo, son menos susceptible a la oxidación.

El carácter farmacológico de los cambios descritos ha generado posturas críticas hacia la trascendencia final que puedan llegar a tener. Buena parte de ellas ha sido desactivada por los estudios de cinética de partículas anteriormente mencionados, que claramente demuestran efectos beneficiosos, por ejemplo, en la reducción efectiva de LDL. Sin embargo, hay quien mantiene que, al fin y al cabo, la HDL aumenta en buena medida no ya por una aceleración de su generación, sino por la inhibición de la lipasa hepática, es decir, por una inhibición de su degradación. Es posible, por tanto, que más que acelerar el transporte inverso del colesterol, estos cambios en HDL traduzcan un bloqueo del mismo en el puerto de llegada, con acumulación de las partículas responsables de ese transporte, en este caso la HDL.

En conclusión, siendo importante lo hasta ahora comentado, las tendencias más modernas y novedosas sobre la acción de las hormonas ováricas sobre lípidos y lipoproteínas han vuelto la cara hacia cam-

bios más sutiles sobre estas partículas, cambios que, finalmente, parecen mucho más trascendentes a la hora de condicionar riesgo de arteriosclerosis, y por tanto, de ECC.

Estrógenos y oxidación de LDL

Los estrógenos poseen en su estructura química un grupo hidroxilo fenólico al que se atribuye acción antioxidant e inhibición de la peroxidación lipídica en membranas¹². Se ha propuesto que este mecanismo podría estar implicado en la inhibición de la oxidación de LDL.

Sin embargo, mientras que la mayoría de los estudios *in vitro* han demostrado que los estrógenos son capaces de proteger a la LDL de la oxidación, hay discrepancias cuando el estudio se realiza *in vivo*.

In vitro, estrona y estriol a altas dosis inhiben la oxidación de LDL mediada por cobre, monocitos y células endoteliales¹³. El 17 β -estradiol, el estrógeno natural más abundante en la mujer, tiene también efectos antioxidantes sobre la LDL *in vitro*^{14,15}. Pero en estos experimentos, el estradiol consigue demostrar un efecto protector con dosis del orden de 1.000 veces más altas que las fisiológicas¹⁶. Concretamente, se ha comprobado que el retraso de la oxidación de LDL *in vitro* se consigue tras la adición de cantidades micromolares de 17 α -estradiol (una forma de estrógeno biológicamente inactiva), siendo esta hormona tan efectiva como el 17 β -estradiol e incluso más eficaz que el estriol¹⁷. Las propiedades antioxidantes del 17 α -estradiol, molécula que no se combina con el receptor estrogénico, sugieren que la capacidad antioxidante de los estrógenos es independiente de actuaciones mediadas por receptor.

En cuanto a estudios *in vivo*, la administración de estrógenos conjugados equinos a mujeres posmenopáusicas disminuyó la susceptibilidad tanto de LDL como de HDL a la modificación oxidativa en un estudio¹⁸. No obstante, en la mayoría de ensayos *in vivo* no se han encontrado diferencias en tiempo *lag* tras el tratamiento con estradiol. Éste es el caso de McManus et al¹⁹, quienes después de tratar a mujeres posmenopáusicas con estrógeno oral (1 μ g/día de valerato de estradiol o 0,625 mg/día de estrógenos equinos conjugados) o transdérmico (50 μ g estradiol/día), no encontraron cambios significativos en la inhibición oxidativa de LDL.

102

También se obtuvieron resultados negativos en otro estudio donde la terapia estrogénica a concentraciones fisiológicas (2 mg/día de valerato de estradiol durante 14 días, en mujeres posmenopáusicas con ECC) no modificó el tiempo *lag* de oxidación o el patrón de subclases de LDL, aunque sí hubo un descenso de la concentración de autoanticuerpos anti-LDL oxidada²⁰. Este último detalle, sin embargo, tampoco ha sido confirmado por otros autores, que tras un año de tratamiento hormonal sustitutivo (2 mg valerato de estradiol y 1 mg de acetato de ciproterona en combinación con vitamina D₃ cada día) no observaron alteraciones en los valores de anticuerpos anti-LDL oxidada²¹. Se ha sugerido que los anticuerpos anti-LDL oxidada reaccionan con placas ateroscleróticas, y que los valores de autoanticuerpos se asocian con la progresión de la arteriosclerosis^{22,23}, aunque esta idea no es compartida de forma universal^{24,25}.

Por tanto, todo parece indicar que, en efecto, los estrógenos se comportan como agentes antioxidantes, protectores de la modificación oxidativa de LDL. Hay desacuerdo, con estudios positivos y negativos, sobre la magnitud de este fenómeno a dosis fisiológicas. Por tanto, de existir, el fenómeno sería muy leve a esas concentraciones. No debe, sin embargo, subestimarse o descartarse en cuanto a su trascendencia clínica, pues la LDL oxidada es hoy día considerada un pilar fundamental en el inicio y progresión de la arteriosclerosis, un fenómeno según el que los estrógenos poseen un efecto protector en animales y en el ser humano. Es posible, y ésta es hoy día la opinión predominante, que las herramientas que tenemos para medir ese efecto estrogénico sean demasiado imperfectas y, por tanto, incapaces de detectar un fenómeno aparentemente leve pero que sostenido en el tiempo acaba siendo biológicamente relevante.

Estrógenos y tamaño de partículas de LDL

Distintos grupos han propuesto la hipótesis de que el efecto protector de los estrógenos frente a la enfermedad cardiovascular pueda estar también influído por modificación en el tamaño de las partículas de LDL. Esta hipótesis surgió tras observar que la menopausia parece asociarse con una mayor abundancia de partículas más pequeñas de LDL²⁶. Cabría,

por tanto, esperar que el tratamiento estrogénico indujera la formación de partículas de mayor tamaño y menos densas.

Sin embargo, la administración de estrógenos a mujeres posmenopáusicas ejerce un efecto que es motivo de polémica, pues aunque algunos autores encuentran un efecto neutro^{20,27}, otros detectan incluso una reducción del diámetro de partícula²⁸⁻³³. No obstante, esta situación es contraria a lo observado en el animal de experimentación, pues en experimentos sobre hembras de macacos *rhesus* con doble ooforectomía se detecta que la administración de estrógenos se sigue de un aumento en la resistencia a la oxidación de las LDL y de un aumento en el tamaño de partícula³⁴. De hecho, estudios más sofisticados de cinética de partículas han permitido llegar a una interpretación clara de estos hallazgos aparentemente paradójicos. De acuerdo con el grupo de Campos³⁵, de la Universidad Tufts, en Boston, hay una cinética diferente en los distintos grupos de partículas y no un aumento real de las más pequeñas. Estos autores demostraron que el aporte estrogénico producía una disminución del tiempo de permanencia en la circulación de partículas de LDL, tanto ligeras como densas. Junto con ello, los estrógenos regulan la actividad del receptor de LDL por incremento de la transcripción de su ARNm³⁶. La menor afinidad de las LDL densas por su receptor podría explicar que, aun en un contexto de aclaramiento rápido de unas y otras, la relativa lentitud en las partículas densas puede dar la falsa impresión de su acumulación en el plasma. En otras palabras, el aumento relativo de partículas de LDL densas y pequeñas resultaría de la disminución del número de partículas de LDL ligeras, y no del aumento de la concentración de partículas densas.

PAPEL DE LOS PROGESTÁGENOS

Sobre el metabolismo lipoproteico

La terapia con estrógenos se asocia con un aumento de riesgo de cáncer endometrial. Para prevenir este problema se ha propuesto la asociación de gestágenos a estrógenos en terapia hormonal, lo que se conoce como pautas combinadas. Por tanto, es importante aclarar cuál es el papel de los progestágenos sobre las variables presentadas anteriormente.

La experiencia clínica de los últimos años ha permitido confirmar que todos los gestágenos no son metabólicamente iguales. La progesterona natural, por ejemplo, no ocasiona cambios significativos en los valores de lipoproteínas^{3,37}. Los gestágenos sintéticos, por el contrario, sobre todo los que presentan evidencia de actividad androgénica, acumulan la mayoría de efectos detectados. A escala biológica, el efecto mejor demostrado de los gestágenos con actividad androgénica es la potenciación de la actividad de la lipasa hepática, lo que se relaciona inversamente con los valores de HDL, sobre todo de la HDL₂³⁸, aunque este efecto podría mitigarse con los años de uso. Más discutido es su efecto sobre los valores de TG, pues los gestágenos androgénicos tienden a disminuir el aumento inducido por los estrógenos, un efecto que ha sido atribuido a un aumento en el aclaramiento de VLDL a través de su componente Apo B³⁹.

En la actualidad no es ninguna novedad que los efectos metabólicos de los gestágenos dependen de la dosis empleada y de la potencia androgénica del preparado. En general, los ensayos desarrollados sobre pacientes ponen de manifiesto que el control de la hiperplasia endometrial y, en general, de la proliferación endometrial dependiente de estrógenos, puede conseguirse con dosis de gestágenos cuyo comportamiento metabólico está muy mitigado. De esta forma, en un estudio donde se emplearon dosis bajas de acetato de medroxiprogesterona en forma continua, se observó que ésta fue prácticamente inerte⁴⁰. La reducción que los estrógenos ejercen sobre la LDL, por el contrario, parece no afectarse por el componente gestagénico, si bien se discute si esto traduce un respeto de los gestágenos sobre esa acción estrogénica o, por el contrario, que llegan al mismo resultado a través de procesos metabólicos distintos. Concretamente, se ha llegado a proponer que la combinación de estradiol y norgestrel, un gestágeno nor-derivado, supondría una disminución en la producción de LDL sin afectar su catabolismo⁴¹. El resultado, en efecto, sería también un descenso en la concentración de LDL, pero las consecuencias sobre la aterogénesis quedarían como un gran interrogante.

Sobre la oxidación de LDL y el tamaño de partículas

Además de analizar el papel sobre el patrón lipoproteico, es interesante aclarar si los gestágenos

modifican en algún sentido la oxidación de LDL o el tamaño de sus partículas.

En ensayos *in vitro*, donde se utiliza 17 β-estradiol a concentraciones suprafisiológicas (0,5 μM), la protección de LDL frente a la oxidación no cambia cuando se añaden cantidades crecientes de progestágeno (0,5-10 μM de acetato de medroxiprogesterona o acetato de noretisterona)⁴². Este dato es corroborado por otros trabajos *in vitro*^{43,44}. Los gestágenos, por tanto, no parecen afectar a la oxidación de la LDL, posiblemente por la inexistencia del anillo fenólico presente en el estradiol aunque, de nuevo, hay algún estudio discrepante⁴⁵.

En estudios clínicos, el 17 β-estradiol oral combinado con didrogestrona (progestágeno de estructura química muy parecida a la progesterona natural) tiene un efecto beneficioso sobre el perfil lipoproteico y lipídico en mujeres posmenopáusicas⁴⁶. En otro estudio, con la asociación de 0,625 mg/día de estrógenos conjugados equinos por vía oral con 10 mg/día de medrogestona, administrada durante los últimos 14 días de ciclos de 84 días a lo largo de un año, se observaron cambios favorables en el perfil lipídico y lipoproteico, así como en la concentración de homocisteína, aunque el tiempo *lag* disminuyó ligeramente⁴⁷.

Respecto al tamaño de las partículas de LDL, sólo la medroxiprogesterona se asocia con una disminución del diámetro de partícula según algunos autores, pero no según otros³².

PAPEL DE NUEVAS SUSTANCIAS

SERM

El desarrollo del concepto de los moduladores selectivos de receptores estrogénicos (SERM, del inglés *selective estrogen receptor modulators*), es decir, sustancias que presentan una acción agonista o antagonista de estrógenos según el tejido, ha planteado cuestiones sobre su papel respecto a los parámetros analizados anteriormente.

Tamoxifeno

El tamoxifeno es un derivado del trifeniletíleno, empleado con eficacia en el tratamiento del cáncer de mama, y que puede presentar una actividad si-

104 milar a los estrógenos. Concretamente, se ha sugerido que podría proteger frente a la osteoporosis y la ECC^{48,49}. Guetta et al⁵⁰ comprobaron que el tiempo *lag* para la oxidación de LDL disminuía después del tratamiento con tamoxifeno a dosis fisiológicas. Sin embargo, su uso quedó limitado cuando se descubrió que su administración aumentaba la incidencia de cáncer endometrial⁵¹.

Raloxifeno

Derivado del benzotiofeno, el raloxifeno presenta como ventaja que no estimula el endometrio. En un estudio sobre mujeres posmenopáusicas, Delmas et al⁵² encontraron que la terapia con raloxifeno disminuía los valores de colesterol y LDL en suero. En 1998 Walsh et al⁵³ confirmaron que el uso de raloxifeno en mujeres posmenopáusicas disminuía las concentraciones en plasma de colesterol unido a LDL, fibrinógeno y lipoproteína (a) Lp(a), sin incrementar las de TG. En contraste con el tratamiento estrógenico, el raloxifeno no ejerce efecto alguno sobre los valores de HDL ni sobre los del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), mientras que induce cambios de menor cuantía en Lp(a). Su acción sobre la oxidación de LDL es también protectora, como la del tamoxifeno⁵⁴.

Fitoestrógenos

Se trata de un grupo de sustancias con actividad estrogénica, así denominados por su procedencia vegetal. Estas moléculas, que no tienen carácter esteroide, son miembros de la familia de los flavonoides, y su papel es muy variado en el mundo de las plantas. En tejidos animales, y en el ser humano, parecen comportarse como agonistas y antagonistas parciales, según el tipo de tejido, de los estrógenos. Sin embargo, hay aún muchos interrogantes acerca de su mecanismo de acción, que parece no discurrir siempre a través de los receptores de estrógeno.

Hay distintas clases de fitoestrógenos, como isoflavonas, cumestanos y lignanos. Se acumulan en ciertas sustancias vegetales, como la soja, de cuyo consumo hay alguna información en relación con el metabolismo lipídico. En un metaanálisis publicado en 1995⁵⁵ se puso de manifiesto que el uso de su-

plementos de proteínas de soja se asocia a una reducción de aproximadamente un 13% en LDL, un 11% en TG, y un incremento de un 2% en HDL. En estudios ya clásicos sobre conejos, el suplemento dietético de soja se asoció con una reducción del riesgo de arteriosclerosis⁵⁶.

Cuando se utilizan directamente fitoestrógenos purificados de soja, y no ya suplementos de proteínas de esa planta, se encuentra que, en magnitud equivalente a la de los estrógenos equinos, disminuyen el colesterol total y LDL más VLDL en primates hembra con doble ooforectomía. Sin embargo, frente a los estrógenos equinos los fitoestrógenos de soja aumentan más claramente la HDL y no modifican los TG⁵⁷. También, como los estrógenos, distintos tipos de fitoestrógenos demuestran potencial antioxidante, si bien su comportamiento como bloque no es uniforme, pues hay claras diferencias entre unos componentes y otros⁵⁸. Asimismo, la magnitud del poder antioxidante es menor a la de la vitamina E o a la del probucol. Finalmente, y también sobre el animal de experimentación, demuestran un cierto efecto protector frente a arteriosclerosis y frente a la vasoconstricción^{59,60}.

Sin embargo, los escasos datos clínicos en humanos refieren divergencias. El empleo de dietas enriquecidas con proteína de soja reprodujo en un estudio datos similares a los encontrados en primates^{61,62}, lo que no pudieron confirmar otros investigadores a partir de preparaciones a base de píldoras que contenían fitoestrógenos purificados⁶³. Tampoco consiguieron mejorar el equilibrio lipídico otros autores que trataron con isoflavonas a mujeres posmenopáusicas, aunque estas sustancias sí disminuyeron el tono arterial⁶⁴.

CONCLUSIONES

Las hormonas ováricas, así como otras sustancias empleadas en terapia hormonal, tienen acciones moduladoras sobre el metabolismo lipídico, cuya relevancia clínica parece determinante en el riesgo cardiovascular.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer a Elvira Calap y Rosa Aliaga su colaboración en la preparación del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ross RK, Paganini-Hill A, Mack TM, Arthur M, Henderson BE. Menopausal oestrogen therapy and protection from death from ischaemic heart disease. *Lancet* 1981; 1: 858-860.
2. Moskowitz MS, Moskowitz AA, Bradford W. Changes in serum lipids and coronary arteries of the rat in response to estrogen. *Arch Pathol* 1956; 61: 245-263.
3. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *JAMA* 1995; 273: 199-208.
4. Nakai K, Itoh C, Hotta K, Itoh T, Yoshizumi M, Hiramori K. Estradiol-17 beta regulates de induction of VCAM-1 mRNA expression by interleukin-1 beta in human umbilical vein endothelial cells. *Life Sci* 1994; 54: 221-227.
5. MacRitchie AN, Jun SS, Chen Z, German Z, Yuhanna IS, Sherman TS et al. Estrogen upregulates endothelial nitric oxide synthase gene expression in fetal pulmonary artery endothelium. *Circ Res* 1997; 81: 355-362.
6. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnikar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 1991; 325: 1196-1204.
7. Wakatsuki A, Sagara Y. Lipoprotein metabolism in postmenopausal and oophorectomized women. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 523-528.
8. Karjalainen A, Heikkilä J, Savolainen MJ, Backstrom AC, Kesaniemi YA. Mechanisms regulating LDL metabolism in subjects on peroral and transdermal estrogen replacement therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1101-1106.
9. Matthews KA, Meilahn E, Kuller LH, Kelsey SF, Caggiula AW, Wing RR. Menopause and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med* 1989; 321: 641-646.
10. Krauss RM. Lipids and lipoproteins and effects of hormone replacement. En: Lobo RA, editor. *Treatment of the postmenopausal woman. Basic and clinical aspects* (2.ª ed.). Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999; 369-376.
11. Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1991; 88: 2039-2046.
12. Sugioka K, Shimosegawa Y, Nakano M. Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation. *FEBS Lett* 1987; 210: 37-39.
13. Maziere C, Auclair M, Ronveaux M, Salmon S, Santus R, Maziere JC. Estrogen inhibits copper and cell-mediated modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis* 1991; 89: 175-182.
14. Rifici VA, Khachadurian AK. The inhibition of low density lipoprotein oxidation by 17-beta estradiol. *Metabolism* 1992; 41: 1110-1114.
15. Seeger H, Mueck AO, Lippert TH. The inhibitory effect of endogenous estrogen metabolites on copper-mediated *in vitro* oxidation of LDL. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; 36: 383-385.
16. Santanam N, Shern-Brewer R, McClactey R, Castellano PZ, Murphy AA, Voelkel S et al. Estradiol as an antioxidant: incompatible with its physiological concentrations and function. *J Lipid Res* 1998; 39: 2111-2118.
17. Dittrich R, Müller A, Hensen J, Wildt L. The inhibition of low density lipoprotein oxidation by 17-alpha estradiol. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999; 107: 53-57.
18. Wakatsuki A, Ikenoue N, Sagara Y. Effects of estrogen on susceptibility to oxidation of low-density and high-density lipoprotein in postmenopausal women. *Maturitas* 1998; 28: 229-234.
19. McManus J, McEneny J, Thompson W, Young IS. The effect of hormone replacement therapy on the oxidation of low density lipoprotein in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 1997; 135: 73-81.
20. Hoogerbrugge N, Zillikens MC, Jansen H, Meeter K, Deckers JW, Birkenhäger JC. Estrogen replacement decreases the level of antibodies against oxidized low-density lipoprotein in postmenopausal women with coronary heart disease. *Metabolism* 1998; 47: 675-680.
21. Heikkilä AM, Niskanen SIN, Ylä-Herttuala S, Luoma J, Tuppurainen MT, Komulainen M et al. Postmenopausal hormone replacement therapy and autoantibodies against oxidized LDL. *Maturitas* 1998; 29: 155-161.
22. Parums DV, Brown DL, Mitchinson MJ. Serum antibodies to oxidized low-density lipoprotein and ceroid in chronic periorbititis. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114: 383-387.
23. Armstrong VW, Wieland E, Diedrich F, Renner A, Rath W, Kreuzer H et al. Serum antibodies to oxidized low-density lipoprotein in pre-eclamptic and coronary disease. *Lancet* 1994; 343: 1570-1571.
24. Schumacher M, Eber B, Tatzber F, Kaufmann P, Esterbauer H, Klein W. LDL oxidation and coronary atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 123.
25. Eber B, Schumacher M, Tatzber F, Kaufmann P, Luha O, Esterbauer H et al. Autoantibodies to oxidized low density lipoproteins in restenosis following coronary angioplasty. *Cardiology* 1994; 84: 310-315.
26. Campos H, McNamara JR, Wilson PW, Ordovas JM, Schaefer EJ. Differences in low density lipoprotein subfractions and apolipoproteins in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 30-35.
27. Roscini AR, Lupattelli G, Siepi D, Pagliaricci S, Pirro M, Manzurano E. Low-density lipoprotein size in primary hypothyro-

- dism. Effects of hormone replacement therapy. *Ann Nutr Metab* 1999; 43: 374-379.
28. Granfone A, Campos H, McNamara JR, Schaefer MM, Lamont-Fava S, Ordovas JM et al. Effects of estrogen replacement on plasma lipoproteins and apolipoproteins in postmenopausal, dyslipidemic women. *Metabolism* 1992; 41: 1193-1198.
29. Campos H, Sacks FM, Walsh BW, Schiff Y, O'Hanesian MA, Krauss RM. Differential effects of estrogen on low-density lipoprotein subclasses in healthy postmenopausal women. *Metabolism* 1993; 42: 1153-1158.
30. Griffin B, Farish E, Walsh D, Barnes J, Caslake M, Shepherd J et al. Response of plasma low-density lipoprotein subfractions to oestrogen replacement therapy following surgical menopause. *Clin Endocrinol* 1993; 39: 463-468.
31. Van der Mooren MJ, De Graaf J, Demacker PNM, De Haan AFJ, Rolland R. Changes in the low-density lipoprotein profile during 17 β -estradiol-dydrogesterone therapy in postmenopausal women. *Metabolism* 1994; 43: 799-802.
32. Tilly-Kiesi M, Lappi M, Puolakka J, Luotola H, Pyorala T, Taskinen MR. Different effects of continuous oestrogen-progestin and transdermal oestrogen with cyclic progestin regimens on low-density lipoprotein subclasses. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 1125-1133.
33. Wakatsuki A, Ikenoue N, Sagara Y. Estrogen-induced small low-density lipoprotein particles in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 234-240.
34. McKinney KA, Duell PB, Wheaton DL, Hess DL, Patton PE, Spies HG et al. Differential effects of subcutaneous estrogen and progesterone on low-density lipoprotein size and susceptibility to oxidation in postmenopausal rhesus monkeys. *Fertil Steril* 1997; 68: 525-530.
35. Campos H, Walsh BW, Judge H, Sacks FM. Effect of estrogen on very low density lipoprotein and low density lipoprotein subclass metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3955-3963.
36. Srivastava RA, Baumann D, Schonfeld G. *In vivo* regulation of low density-lipoprotein receptors by estrogens differs at the post-transcriptional level in rat and mouse. *Eur J Biochem* 1993; 216: 527-538.
37. Jensen J, Riis BJ, Strom V, Nilas L, Christiansen C. Long-term effects of percutaneous estrogens and oral progesterone on serum lipoproteins in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 66-71.
38. Tikkkanen MJ, Nikkila EA, Kuusi T, Sipinen SU. High density lipoprotein-2 and hepatic lipase: reciprocal changes produced by estrogen and Norgestrel. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1113-1117.
39. Miller VT, Muesing RA, LaRosa JC, Stoy DB, Phillips EA, Stillman RJ. Effects of conjugated equine estrogen with and without three different progestogens on lipoproteins, high-density lipoprotein subfractions, and apolipoprotein A-I. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 235-240.
40. Cano A, Fernandes H, Serrano S, Mahiques P. Effect of continuous oestradiol-medroxiprogesterone administration on plasma lipids and lipoproteins. *Maturitas* 1991; 13: 35-42.
41. Wolfe BM, Huff MW. Effects of combined estrogen and progestin administration on plasma lipoprotein metabolism in postmenopausal women. *J Clin Invest* 1989; 83: 40-45.
42. Mueck AO, Seeger H, Lippert TH. Estradiol inhibits LDL oxidation: do the progestins medroxiprogesterone acetate and norethisterone acetate influence this effect? *Clin Exp Obstet Gynecol* 1998; 25: 26-28.
43. Schröder J, Dören M, Scheneider B, Oettel M. Are the anti-oxidative effects of 17 β -estradiol modified by concomitant administration of a progestin? *Maturitas* 1996; 25: 133-139.
44. Arteaga E, Rojas A, Villaseca P, Bianchi M, Arteaga A, Duran D. *In vitro* effect of estradiol, progesterone, testosterone, and of combined estradiol/progestins on low density lipoprotein (LDL) oxidation in postmenopausal women. *Menopause* 1998; 5: 16-23.
45. Zhu X, Bonet B, Knopp RH. Estradiol 17 β inhibition of LDL oxidation and endothelial cell cytotoxicity is opposed by progestins to different degrees. *Atherosclerosis* 2000; 148: 31-41.
46. Mijatovic V, Kenemans P, Netelenbos JC, Peters-Muller ER, Van Kamp GJ, Voetberg GA et al. Oral 17 β -estradiol continuously combined with dydrogesterone lowers serum lipoprotein(a) concentrations in healthy postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3543-3547.
47. Van der Mooren MJ, Demacker PNM, Blom HJ, De Rijke YB, Rolland R. The effect of sequential three-monthly hormone replacement therapy on several cardiovascular risk estimators in postmenopausal women. *Fertil Steril* 1997; 67: 67-73.
48. McDonald CC, Stewart HJ. Fatal myocardial infarction in the Scottish adjuvant tamoxifen trial. The Scottish Breast Cancer Committee. *Br Med J* 1991; 303: 435-437.
49. Rutqvist LE, Mattsson A. Cardiac and thromboembolic morbidity among postmenopausal women with early stage breast cancer in a randomized trial of adjuvant tamoxifen. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1398-1406.
50. Guetta V, Lush RM, Figg WD, Waclawiw MA, Cannon RO 3rd. Effect of the antiestrogen tamoxifen on low-density lipoprotein concentration and oxidation in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 1995; 76: 1072-1073.
51. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanagh M, Cronin WM et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1371-1388.
52. Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH, Ravoux AC, Shah AS, Huster WJ et al. Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1997; 337: 1641-1647.
53. Walsh BW, Kuller LH, Wild RA, Paul S, Farmer M, Lawrence JB et al. Effects of raloxifene on serum lipids and coagulation

- factors in healthy postmenopausal women. *JAMA* 1998; 279: 1445-1451.
54. Zuckerman SH, Bryan N. Inhibition of LDL oxidation and myeloperoxidase dependent tyrosyl radical formation by the selective estrogen receptor modulator raloxifene. *Atherosclerosis* 1996; 126: 65-75.
55. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 1995; 333: 276-282.
56. Huff MW, Roberts DCK, Carroll KK. Long-term effects of semi-purified diets containing casein or soy protein isolate on atherosclerosis and plasma lipoproteins in rabbits. *Atherosclerosis* 1982; 41: 327-336.
57. Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL. Plant and mammalian estrogen effects on plasma lipids in female monkeys. *Circulation* 1994; 90: 1-235.
58. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Rad Res* 1997; 26: 63-70.
59. Clarkson TB, Anthony MS. Phytoestrogens and coronary heart disease. *Baillière's Clin Endocrinol Metab* 1998; 12: 589-604.
60. Honore EK, Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. Soy isoflavones enhance vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertil Steril* 1997; 67: 148-154.
61. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW Jr. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (Supl 6): 1375-1379.
62. Washburn S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure, and menopausal symptoms in perimenopausal women. *Menopause* 1999; 6: 7-13.
63. Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA, Croft KD. Supplementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations: a randomized controlled trial in humans. *J Nutr* 1998; 128: 728-732.
64. Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, Komesaroff P, Behrsing J, Cameron JD et al. Isoflavones from Red Clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 895-898.