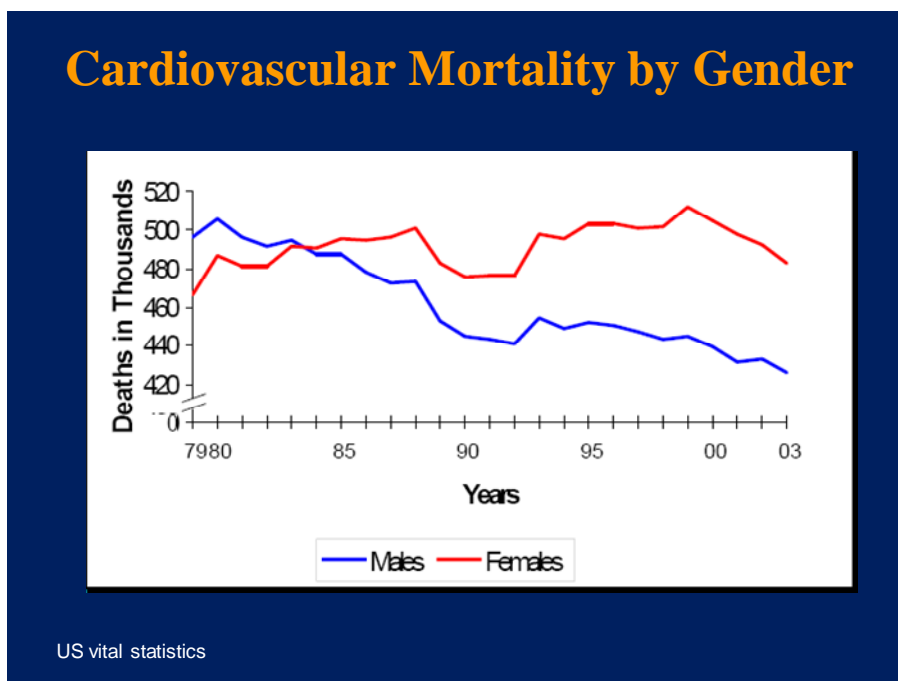


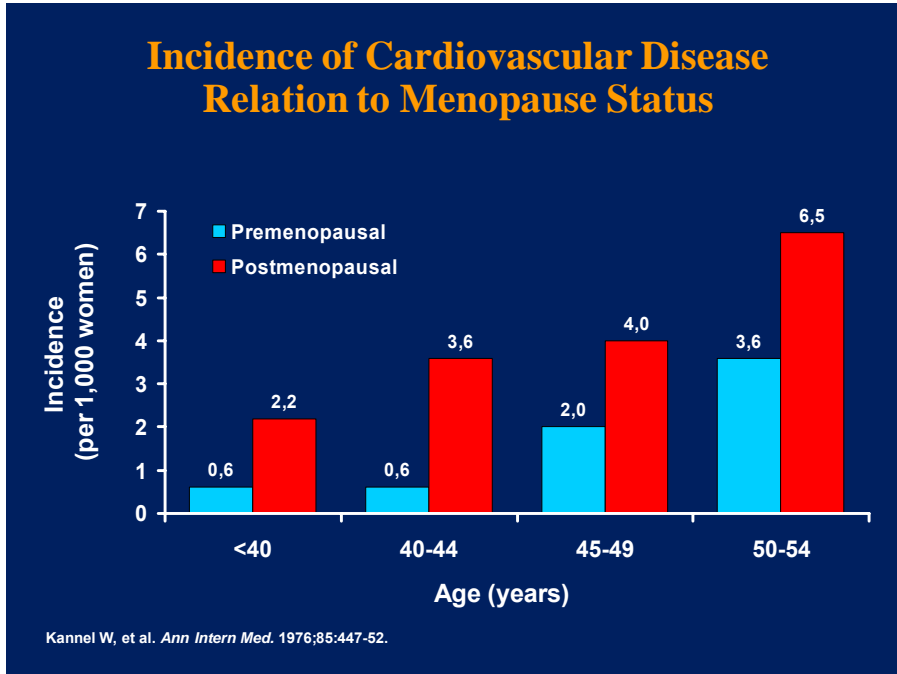
Mulheres e DAC

Rosano, Giuseppe

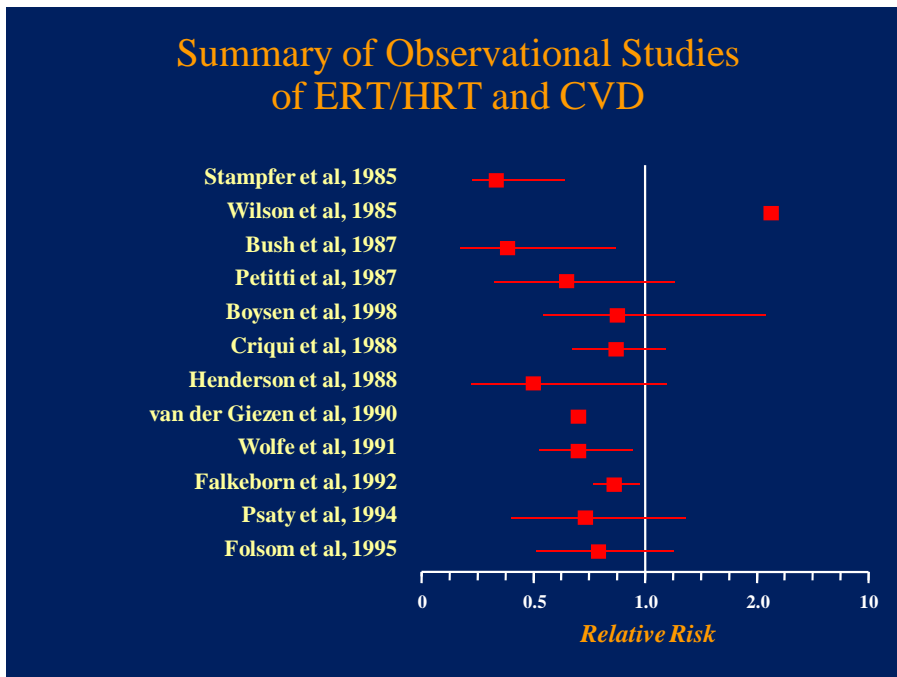
Doenças cardiovasculares e cerebrovasculares se tornaram nos últimos 20 anos a principal causa de mortalidade e morbidade em mulheres após menopausa nos países industrializados. Enquanto as taxas de mortalidade reduziram progressivamente em homens, elas aumentaram em mulheres(1). O aumento da incidência de doenças cardio e cerebrovasculares é conseqüência do aumento da população de mulheres pós menopausa. Na verdade, o aumento do número de mulheres pós menopausa acompanhou o aumento da manifestação de doenças como demência, osteoporose e as próprias doenças cardiovasculares, que eram raras neste grupo ate décadas atrás e são influenciadas pela falta de estrogênio.



Está claro agora que a deficiência de estrogênio tem papel fundamental no desenvolvimento de doenças cardiovasculares(DCV), conforme dados epidemiológicos indicam. O risco cardiovascular aumenta no período pós menopausa e estas pacientes têm incidência maior de doença cardiovascular se comparada a mulheres com ciclo menstrual regular(2,3).



Hormônios ovarianos têm vários efeitos protetores para o sistema cardiovascular além dos efeitos benéficos do estrogênio e das associações estrogênio-progestágeno em endpoints secundários de doenças cardiovasculares sugeridos em diversos estudos observacionais.

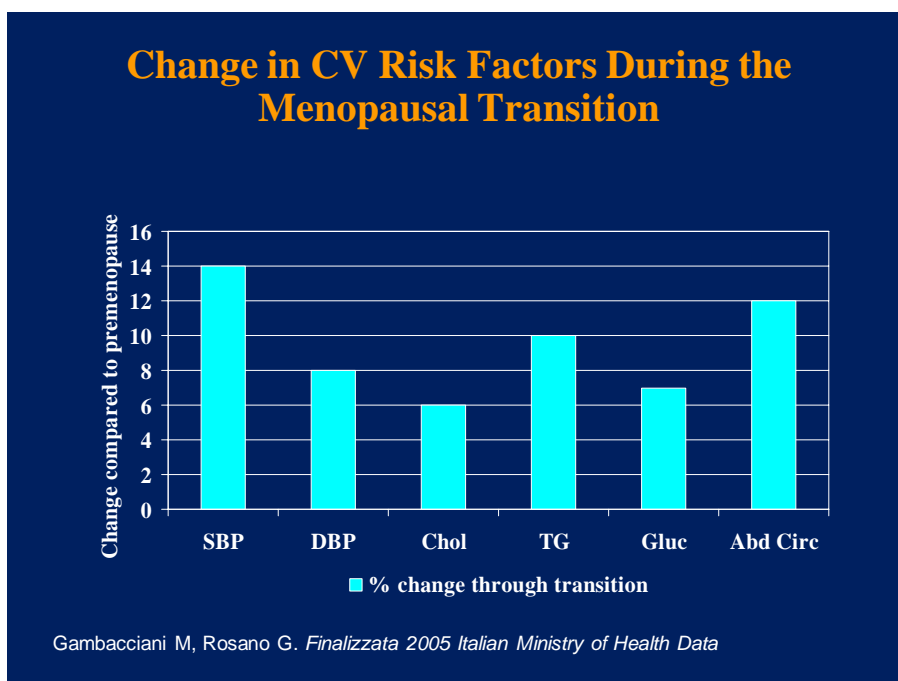


O efeito da terapia de reposição hormonal (TRH) na prevenção de eventos cardiovasculares ainda é tema de debate devido aos dados serem derivados de estudos usando dose fixa de estrogênio-

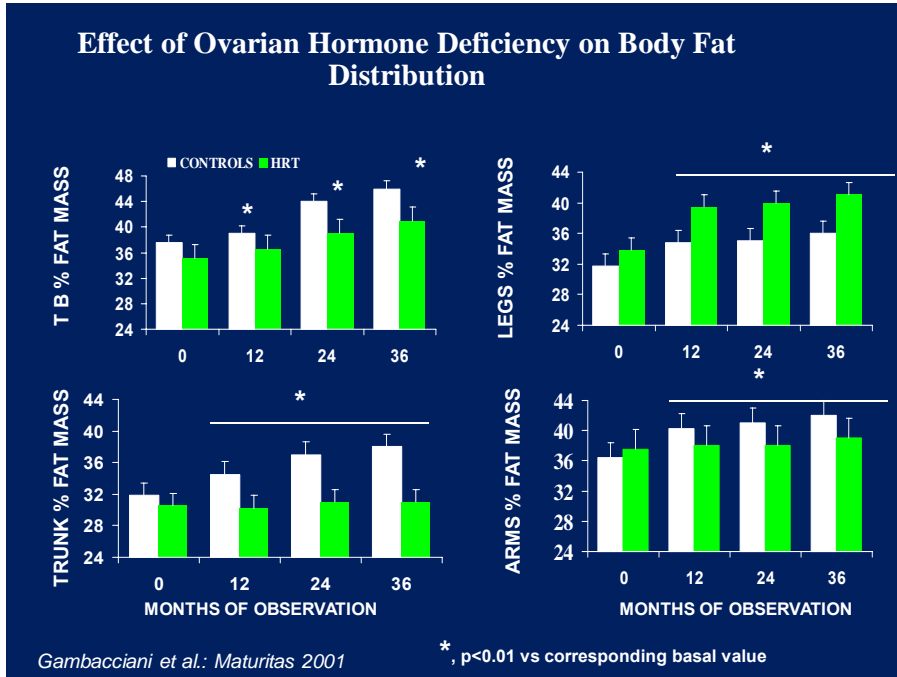
progesterona em populações principalmente compostas de mulheres há muito tempo menopausadas(4-13).

Menopausa como fator de risco cardiovascular

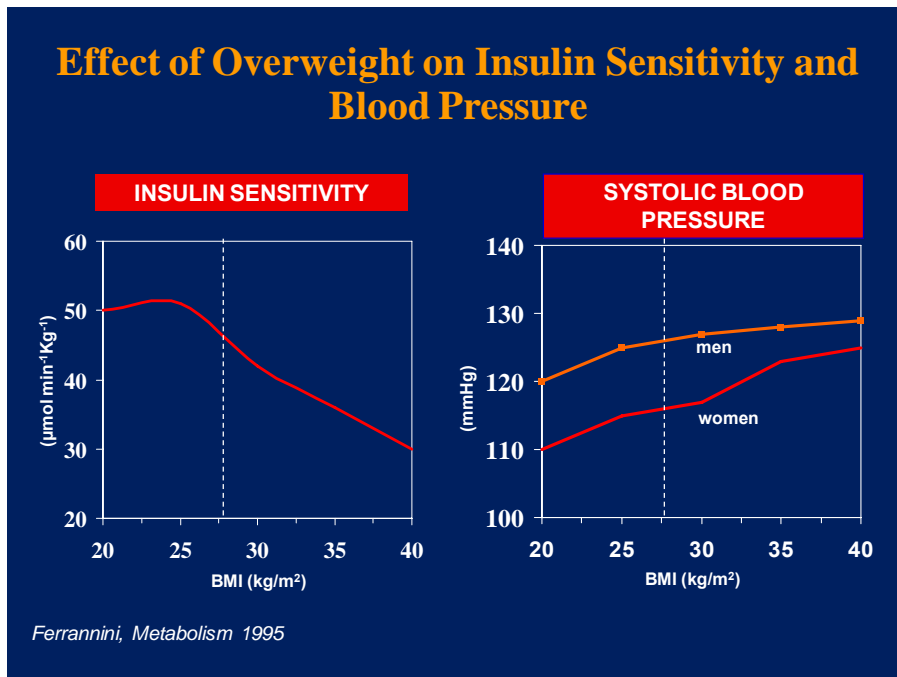
Nas mulheres após menopausa a deficiência de hormônios ovarianos causa mudanças no metabolismo e fisiologia da mulher, levando a maior prevalência de hipertensão(HAS), diabetes(DM), dislipidemia e síndrome metabólica quando comparadas ao período pré menopausa(2). Ainda que a deficiência de estrogênio possa induzir mudanças maléficas em todos os fatores de risco, estas mudanças devem ser observadas de um ponto de vista unificador. Na verdade, a menopausa altera o peso, sensibilidade a insulina, lipídeos, tônus simpático e função vascular. Estas mudanças interagem entre si amplificando os efeitos da deficiência hormonal e envelhecimento.



Menopausa é associada a mudanças importantes no peso e distribuição de gordura corporal. Mulheres na menopausa tendem a ganhar peso a partir do primeiro ano e alterar o padrão de distribuição de gordura de ginecóide para andróide(13). O fato de que as mudanças no peso são relacionadas a deficiência de estrogênio é inferido pelo fato de que mulheres em reposição hormonal ganham peso em taxa mais lenta que mulheres sem TRH e mantêm padrão ginecóide de distribuição de gordura(14).

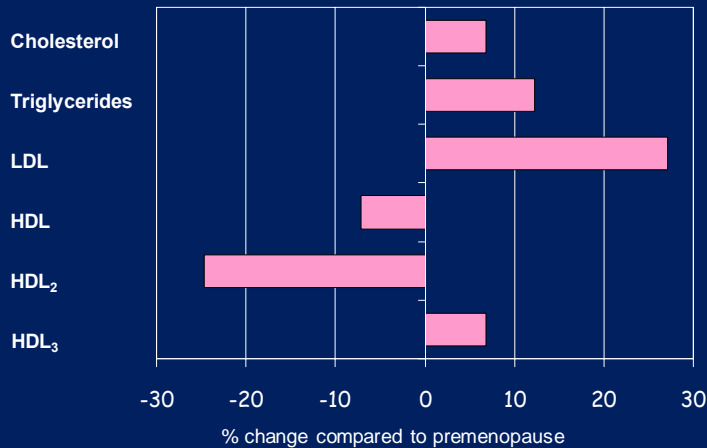


Aumento do IMC(Índice de massa corporal) e aumento da proporção de gordura visceral estão intimamente relacionadas ao desenvolvimento de resistência insulínica, HAS, e uma gama de fatores de risco cardiovasculares(13-18).



Menopausa está associada a mudanças desfavoráveis no perfil lipídico: aumento de triglicérides, LDL-c, lipoproteína a(LpA) e redução de HDL-c(19-20).

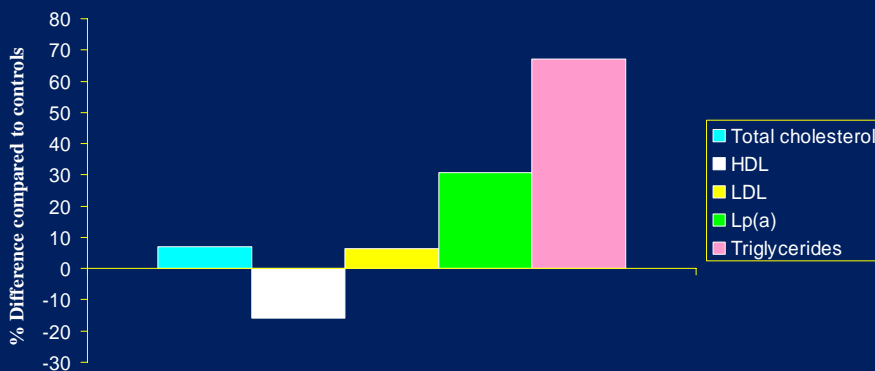
Changes in Lipid Profile in Postmenopausal Women



Stevenson et al. *Atherosclerosis* 1993;98:83

Porém, quando discutimos o efeito da menopausa no metabolismo lipídico nas mulheres é importante frisar que enquanto em homens o LDL-c e o colesterol total são os mais importantes preditores de eventos cardiovasculares, nas mulheres o aumento de triglicérides, LpA e a redução de HDL-c são mais importantes no desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Lipid Differences in Women With CAD Compared to Controls*



*controls = women without CAD

Eriksson et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:67.

A importância relativa da mudança no perfil lipídico após a menopausa na determinação do risco cardiovascular ainda deve ser melhor determinada, e os estudos que avaliaram o efeito das terapias para redução do colesterol para prevenção primária de eventos para mulheres menopausadas falhou em mostrar resultados benéficos (redução de morbidade e mortalidade).

Lipid Lowering Therapy in Women: a Meta-analysis of 13 RCT

Women without cardiovascular disease

- LLT does not reduce CVD mortality
- LLT may reduce events but there is insufficient evidence to suggest its use in women with low to moderate CV risk

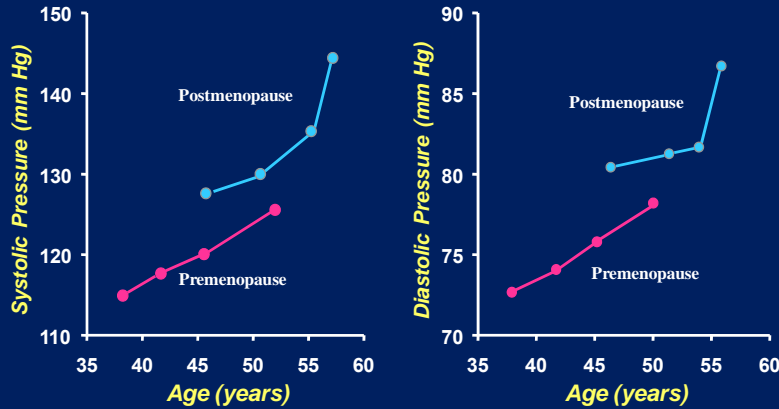
Women with cardiovascular disease

- LLT reduces CHD events, CHD mortality, non fatal MI and revascularization, however it does not affect total mortality

Walsh & Pignone JAMA 2004; 291: 2243-2252

É difícil correlacionar mudanças na pressão arterial (PA) com a menopausa porque a última está associada com envelhecimento, e porque tanto a menopausa quanto o aumento da PA são influenciadas por fatores como IMC, fatores sócio-econômicos e tabagismo. Após a meia idade tanto a PA sistólica quanto a PA diastólica são mais altas nas mulheres que nos homens, sugerindo efeito deletério da menopausa no desenvolvimento da HAS durante o envelhecimento. Staessen ET AL mostraram que HAS é mais prevalente em mulheres após menopausa, e que após estratificação corrigida para IMC e idade, o risco de desenvolvimento de HAS é 2,2 após menopausa se comparado a pré-menopausa (21).

The Influence of Menopause on Blood Pressure



Staessen JA, et al. *J Hum Hypertens.* 1998;12:587-92.

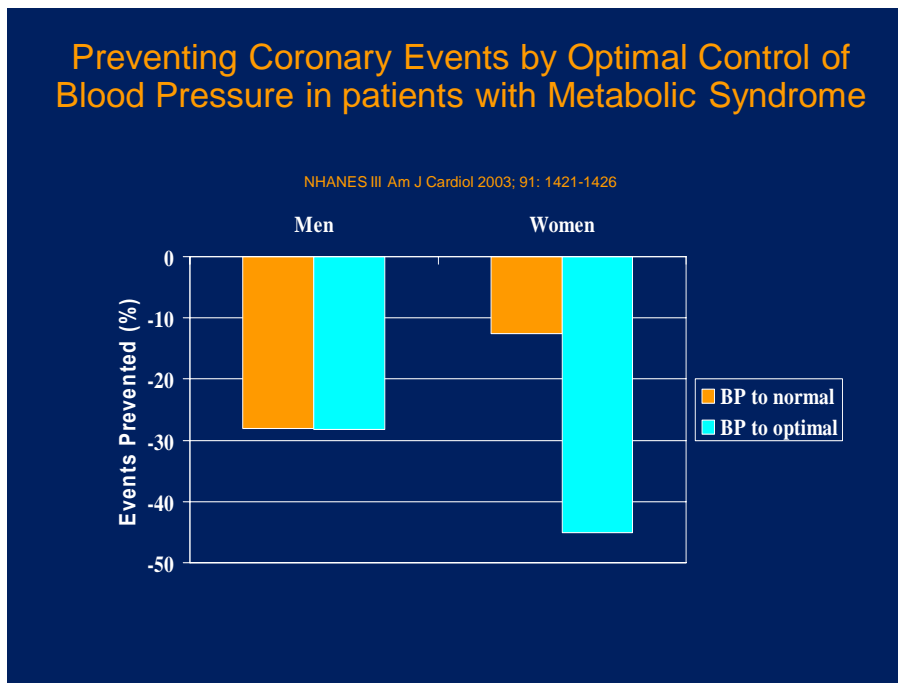
Conforme demonstrado pelo estudo DECODE hipertensão tem pior impacto prognóstico para mortalidade e morbidade em mulheres que em homens, e ao contrario do que ocorre com drogas hipolipemiantes todas as estratégias para redução da PA sempre mostraram efeitos benéficos tanto em mulheres quanto em homens(22).

Relative risk (95% CI) for mortality in subjects with hypertension, diabetes or both - DECODE

	Relative risk (95 CI)	
	Men	Women
Cardiovascular diseases		
Normal	1.00	1.00
Hypertension	1.45 (1.23-1.72)	1.89 (1.34-2.66)
Diabetes	2.06 (1.45-2.93)	2.36 (1.29-4.31)
Hypertension + Diabetes	2.32 (1.83-2.94)	4.57 (3.06-6.82)
All causes		
Normal	1.00	1.00
Hypertension	1.25 (1.12-1.39)	1.10 (0.91-1.33)
Diabetes	1.87 (1.48-2.36)	1.64 (1.14-2.36)
Hypertension + Diabetes	1.97 (1.68-2.32)	2.22 (1.74-2.83)

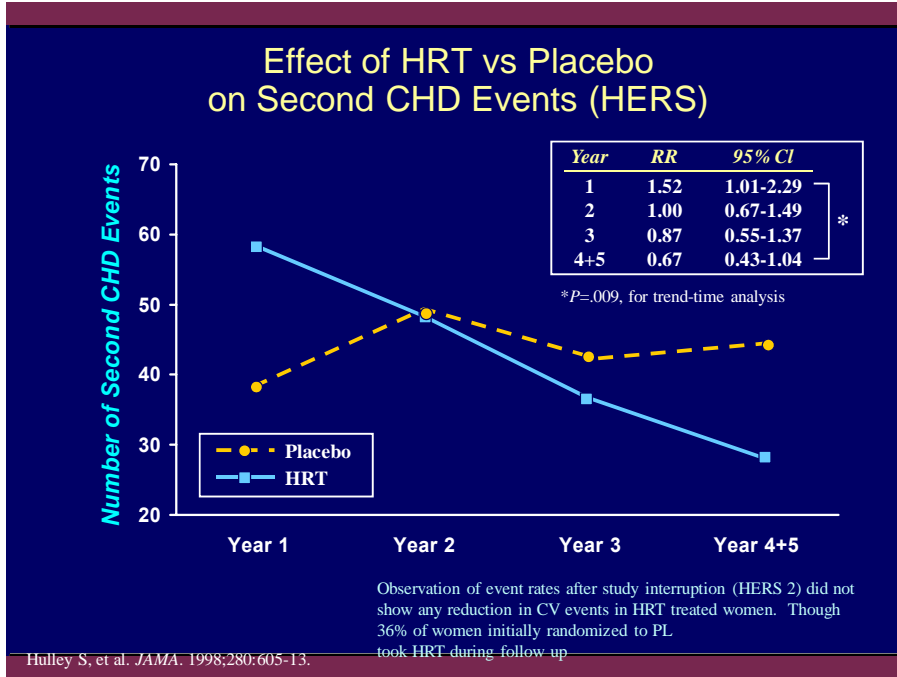
Adjusted for age, center, BMI, smoking and cholesterol.

Mais que isso, foi sugerido que o controle da PA é mais importante em mulheres que em homens, assim como no grupo com síndrome metabólica o controle da PA em mulheres é mais eficaz em reduzir eventos cardiovasculares que nos homens.



Terapia de reposição Hormonal e cardioproteção

Nas últimas décadas até a publicação do Womens Health Initiative reposição de estrogênio e outros hormônios eram prescritas para alívio dos sintomas da menopausa e nos EUA era orientada para até vários anos após menopausa com o intuito de reduzir a ocorrência de doenças cardiovasculares(DCV). Isto era baseado em vários estudos, quase todos sugerindo redução de eventos cardiovasculares com reposição de estrogênio e outros hormônios e uma vasta quantidade de evidencia sugerindo efeitos favoráveis no perfil lipídico e efeito protetor com reposição de hormônios ovarianos nas funções vasculares(5-10). O resultado de estudos randomizados apresentaram resultados muito semelhantes aos estudos observacionais, exceto no tocante a DCV. Inicialmente o estudo HERS, e depois o braço estrogênio/progesterona do WHI sugeriram que a TRH pode aumentar o risco cardiovascular quando iniciado tardiamente após a menopausa(13-23).



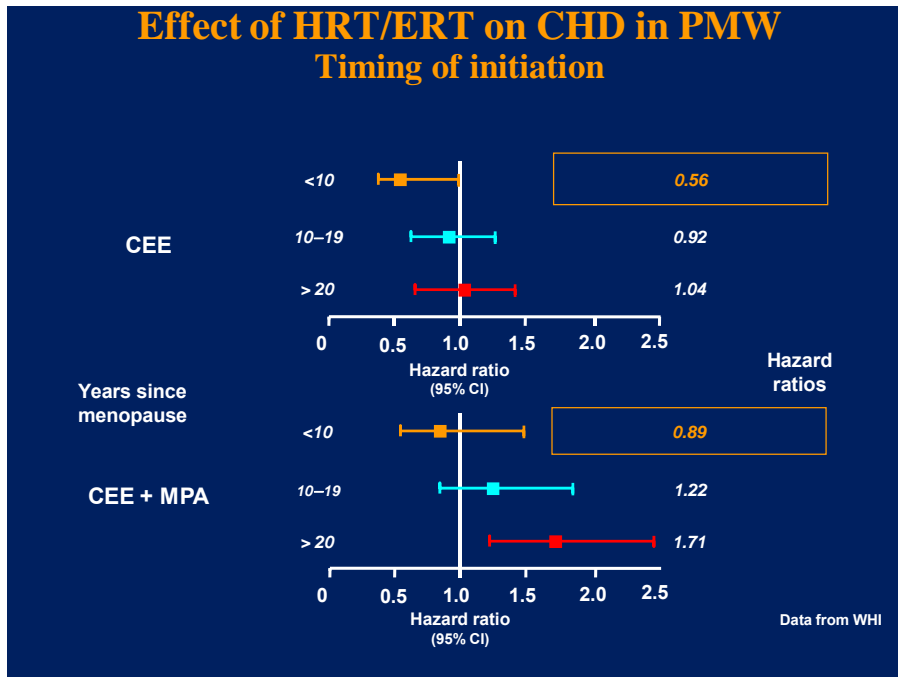
WHI Results of Estrogen-Progestin Arm: CVD Outcomes

Outcome	HRT n (%) ^a	Placebo n (%) ^a	Hazard Ratio	Nominal 95% CI	Adjusted 95% CI
CHD	164 (0.37)	122 (0.30)	1.29	1.02-1.63	0.85-1.97
CHD death	33 (0.07)	26 (0.06)	1.18	0.70-1.97	0.47-2.98
Nonfatal MI	133 (0.30)	96 (0.23)	1.32	1.02-1.72	0.82-2.13
CABG/PTCA	183 (0.42)	171 (0.41)	1.04	0.84-1.28	0.71-1.51
Stroke	127 (0.29)	85 (0.21)	1.41	1.07-1.85	0.86-2.31
Fatal	16 (0.04)	13 (0.03)	1.20	0.58-2.50	0.32-4.49
Nonfatal	94 (0.21)	59 (0.14)	1.50	1.08-2.08	0.83-2.70
VTE disease	151 (0.34)	67 (0.16)	2.11	1.58-2.82	1.26-3.55
Deep vein thrombosis	115 (0.26)	52 (0.13)	2.07	1.49-2.87	1.14-3.74
Pulmonary embolism	70 (0.16)	31 (0.08)	2.13	1.39-3.25	0.99-4.56
Total CVD	694 (1.57)	546 (1.32)	1.22	1.09-1.36	1.00-1.49

^an = number of patients; (%) = annualized % calculated from average exposure over ~60 months. Nominal = variability based on simple trial for single outcome; adjusted = corrects variability for multiple analyses over time.

Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. *JAMA*. 2002;288:321-333.

Estes resultados, contudo, não foram confirmados em relato recente do braço estrogênio de WHI(24). O último estudo também sugeria que em mulheres onde a TRH era introduzida precocemente após a menopausa-perfil bem semelhante ao dos estudos observacionais- a reposição de estrogênio pode reduzir risco cardiovascular em grau semelhante ao sugerido pelos estudos observacionais.



Parece claro que dois fatores são de importância fundamental para explicar a divergência entre os resultados até agora: o tempo de início da TRH e o uso da combinação de estrogênio/progesterona.

Envelhecimento e resposta do sistema cardiovascular ao estrogênio

A diferença mais importante entre os estudos observacionais e randomizados são as mulheres estudadas.

HRT and Prevention of Cardiovascular Disease

- *Differences between observational and randomized studies:*

Reasons for starting HRT

Age at initiation of HRT

Comorbidities

Risks related to initiation of therapy after long deprivation

Nos estudos observacionais as mulheres optaram por tomar TRH devido a sintomas da menopausa, enquanto nos estudos randomizados a ausência de sintomas da menopausa eram pré requisito para inclusão no estudo. A ausência de sintomas indica uma adaptação fisiológica à privação dos hormônios ovarianos, devido ao gradual declínio do estrogênio ou devido ao longo tempo passado desde o início da menopausa, atingindo assim um estado de homeostase.

Quase todos os estudos sugeriram benefício substancial nos marcadores intermediários de doença coronariana(melhora do perfil lipídico e melhora da vasodilatação dependente do endotélio).

Major Systemic and Direct Effects of Estrogens

•Systemic

- ◆ Lipid
 - HDL-C
 - LDL-C
 - Lp(a)
 - Triglycerides
- ◆ Nonlipid
 - Coagulation factors
 - Carbohydrate metabolism
 - Inflammation
 - Homocysteine

•Direct

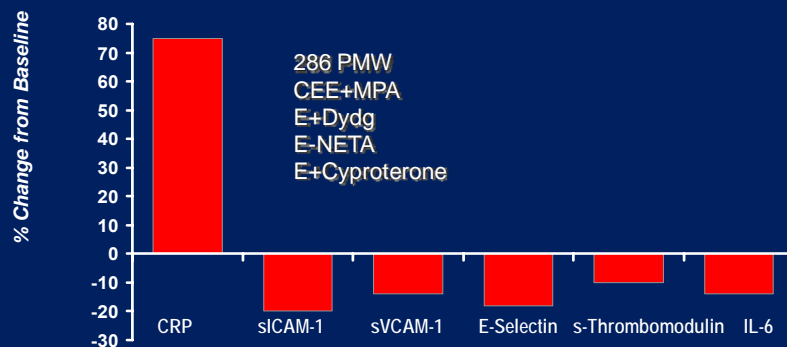
- ◆ Short-Term/Rapid
 - Vasodilation
 - Nitric oxide availability
 - HDL oxidation
- Long-Term*
 - Atherosclerosis
 - Vascular injury response
 - Endothelial and smooth muscle cell growth
 - Elastin/collagen production

*Data based on animal studies.

HDL-C = high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C = low-density lipoprotein cholesterol; Lp(a) = lipoprotein(a).

Foi sugerido que TRH pode aumentar os níveis de proteína C reativa. Existe evidencia de que este aumento não é inflamatório na maioria das mulheres, ainda que nas mulheres idosas isto pode indicar aumento da atividade inflamatória vascular.(12,25-27)

CRP and Inflammatory Markers with Oral HRT



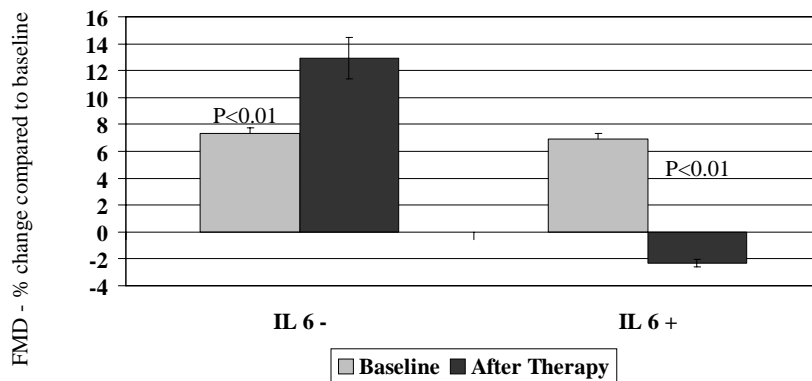
CRP: C-reactive protein; sICAM-1: soluble intracellular adhesion molecule-1; sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule-1; s: soluble; IL-6: Interleukin-6

Silvestri A et al. *Circulation* 2003
Vitale C et al *Menopause* 2005

Evidencia derivada de estudos clínicos e experimentais indicam que muitos dos efeitos cardioprotetores e anti-aterogênicos dos hormônios ovarianos são mediados por receptores e

endotélio-dependentes. Tanto os receptores de estrogênio quanto a função endotelial são marcadamente influenciados pelo tempo de privação de estrogênio e progressão da doença aterosclerótica. A expressão de receptores de estrogênio na parede arterial reduz com a idade e tempo decorrido do início da menopausa

CRP, Inflammatory Markers and Endothelial Function with HRT

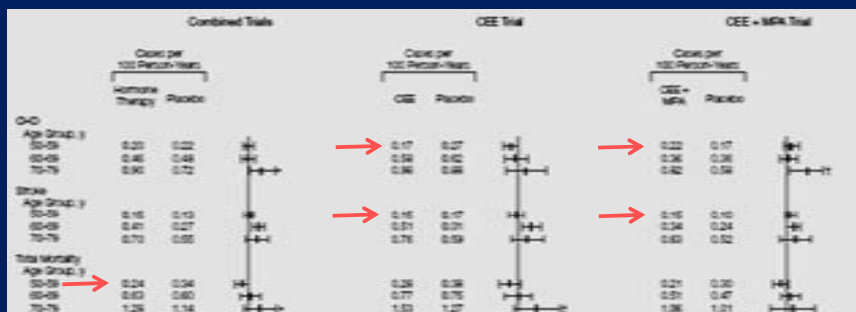


Nas mulheres recentemente em menopausa, como as pacientes dos estudos observacionais, TRH pode ser cardioprotetora pois a responsividade do endotélio ao estrogênio também suaviza os efeitos maléficis sobre a coagulação. Nas mulheres em menopausa há mais tempo, os hormônios ovarianos têm efeito nulo ou até maléfico devido ao predomínio de efeitos prócoagulantes ou desestabilizadores de placa sobre os efeitos vasoprotetores.

Assim, TRH tem efeitos benéficos nas mulheres mais jovens, enquanto nas mulheres mais velhas têm efeito nulo ou até prejudicial no controle da coagulação. Análise recente do WHI estratificando os pacientes por idade mostrou que em mulheres dos 50-59 anos de idade TER(apenas com estrogênio) pode reduzir a mortalidade total e eventos cardiovasculares enquanto TRH não apresenta efeitos deletérios cardiovasculares.

Postmenopausal Hormone Therapy and Risk of Cardiovascular Disease by Age and Years Since Menopause

Jacques E. Rossouw, MD
 Ross L. Prentice, PhD
 Julian E. Manson, MD, DrPH
 Li-Ling Wu, MSc
 David Beral, MD
 Vanessa M. Barnabei, MD, PhD
 Maria Ko, MD
 Andrea Z. LaCroix, PhD
 Karen L. Margolis, MD
 Maria L. Stefanick, PhD



JAMA, April 4, 2007—Vol 297, No. 13

Tipo de reposição

Devido às diferenças encontradas no braço estrogênio e no braço estrogênio/progesterona do WHI é evidente que o tipo de reposição é importante. Porém se por um lado é fácil condenar o uso de estrogênios conjugados e medroxiprogesterona, por outro devemos observar que a maioria dos estudos que sugeriram benefício cardiovascular utilizaram as duas substâncias. Provavelmente o efeito deletério da combinação estrogênio/progesterona não se deve aos hormônios em si, mas ao uso em determinada população para a qual este tratamento era inadequado. Sabe-se que os efeitos vasculares da reposição hormonal podem diferir de acordo com o tempo passado do início da menopausa e com características clínicas das mulheres estudadas. O Cardiovascular Health Study mostrou que mulheres com fatores de risco cardiovasculares têm resposta reduzida aos estrogênios(29). Mulheres recrutadas e estudos randomizados tinham alta incidência de fatores de risco mal controlados como HAS e obesidade se comparadas às mulheres dos estudos observacionais, reduzindo a eficácia dos efeitos cardioprotetores dos estrogênios e aumentando a probabilidade de eventos cerebrovasculares dos progestágenos e seu conseqüente efeito na pressão arterial.

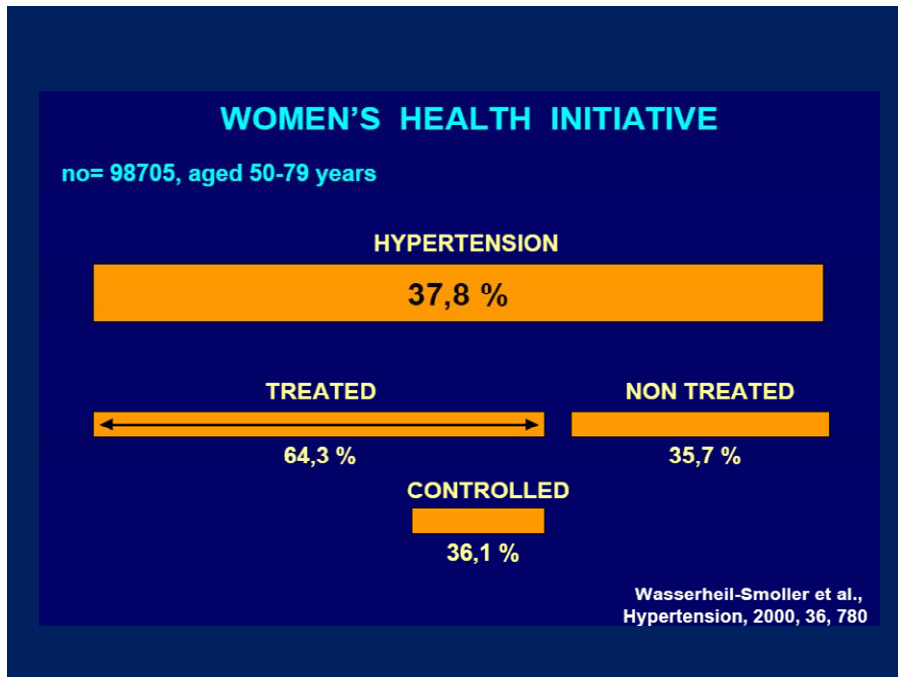
WHI Baseline Characteristics

Characteristic	HRT n = 8,506	Placebo n = 8,102
Age at screening, yrs*	63.2 (7.1)	63.3 (7.1)
Prior hormone use, %	26.1	25.6
Body mass index, kg/m ² *	28.5 (5.8)	28.5 (5.9)
Never smokers, %	49.6	50.0
Diabetes, %	4.4	4.4
Hypertension, %	35.7	36.4
Statin use at baseline, %	6.9	6.8
Family Hx breast cancer, %	16.0	15.3
History of MI, † %	1.6	1.9
History of CABG/PTCA, † %	1.1	1.5‡

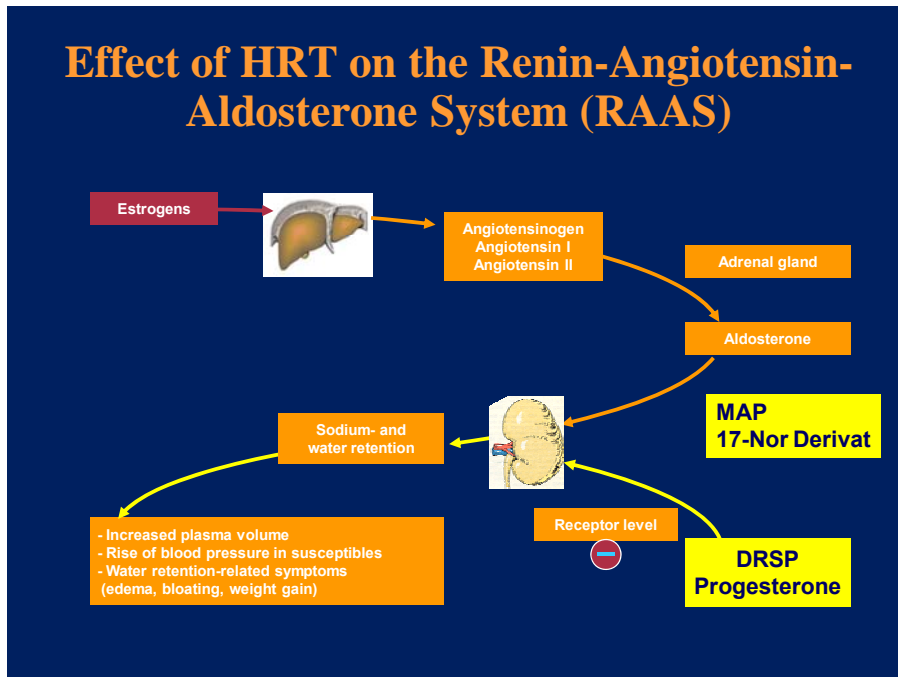
*Values are means (SD); †Overall incidence of prior cardiovascular disease = 7.7%; ‡P = .04 vs HRT.

Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. *JAMA*. 2002;288:321-333.

O efeito da TRH sobre a pressão arterial são muito relevantes já que o aumento da PA no grupo estrogênio/progesterona incluído no WHI pode explicar o aumento da taxa de AVC observada no estudo(13). A maioria das mulheres do estudo WHI já tinham HAS, o que pode ter aumentado o efeito mineralocorticóide da medroxiprogesterona(30)



O efeito mineralocorticóide dos progestágenos pode ser aumentado pelo efeito dos estrogênios na produção de angiotensionogênio, que por sua vez pode aumentar a produção de angiotensina e aldosterona. Assim, progestágenos com efeitos anti-mineralocorticóides e efeitos anti-aldosterona são preferidos nas mulheres após menopausa, especialmente se existe história familiar de HAS ou se elas referem ganho ponderal ou edema com outras combinações de estrogênio/progestágenos.



Sabe-se que o aumento de peso aumenta a probabilidade de tromboembolismo. Mulheres incluídas no WHI eram na maioria obesas ou com sobrepeso. A associação de TRH e sobrepeso podem aumentar o risco de tromboembolismo.

Risk of VTE and HRT in PMW

	Cases (n=155)	Controls (n=381)	p
Age (years)	62.1 (6.8)	62.0 (6.8)	0.18
Body-mass index (kg/m ²)	26.4 (5.3)	24.5 (5.1)	0.0003
Body-mass index >30 kg/m ² ,	29 (18.7%)	50 (13.1%)	0.09
Family history of VTE	41 (26.5%)	71 (18.6%)	0.05
Current smokers	17 (11.0%)	49 (12.9%)	0.52
Educational level beyond secondary*	30 (19.4%)	62 (16.3%)	0.42
Personal history			
Hypertension	25 (16.1%)	47 (12.3%)	0.24
Diabetes mellitus	2 (1.3%)	26 (6.8%)	0.01
Varicose veins	85 (54.8%)	167 (43.8%)	0.02
At least one risk factor†	44 (28.4%)	99 (26.0%)	0.80

Data are number (%) or mean (SD). *Data for one case missing. †Hypertension, obesity, or diabetes.

Table 1: Characteristics of cases with VTE and controls

Scarabin et al, for the Estrogen and Thromboembolism Risk Study Group (ESTHER), The Lancet 362, August 9, 2003

Concluindo, TRH é benéfica em mulheres quando iniciada precocemente após menopausa. Obesidade, tempo decorrido do início da menopausa e aumento da PA aumentam o risco de eventos adversos durante a TRH. O julgamento clínico entre a combinação ideal de estrogênio/progesterona são de grande importância para maximizar o efeito benéfico do estrogênio puro ou em combinação, em especial quando é iniciado precocemente após menopausa.

Referencias:

1. American Heart Association. 2000 Heart and Stroke statistical update, Dallas, Texas, AHA 1999
2. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1987 30;316:1105-10
3. Rosano GM, Fini M. Postmenopausal women and cardiovascular risk: impact of hormone replacement therapy. *Cardiol Rev.* 2002 Jan-Feb;10(1):51-60
4. Stampfer MJ, Colditz GA. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med* 1991;20:47-63
5. Grodstein F, Stampfer M. The epidemiology of coronary heart disease and estrogen replacement in postmenopausal women. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:199-210
6. Gruchow HW, Anderson AJ, Barboriak JJ, Sobocinski KA. Postmenopausal use of estrogen and occlusion of coronary arteries. *Am Heart J* 1988;115:954-63
7. McFarland KF, Boniface ME, Hornung CA, Earnhardt W, Humphries JO. Risk factors and noncontraceptive estrogen use in women with and without coronary disease. *Am Heart J* 1989;117:1209-14
8. Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Joffe M, Rosner B, Fuchs C, Hankinson SE, Hunter DJ, Hennekens CH, Speizer FE. Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med* 1997;336:1769-75
9. Henderson BE, Paganini-Hill A, Ross RK. Decreased mortality in users of estrogen replacement therapy. *Arch Intern Med* 1991;151:75-8
10. Bush TL, Barrett-Connor E, Cowan LD, Criqui MH, Wallace RB, Suchindran CM, Tyroler HA, Rifkind BM. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: results from the Lipid Research Clinics Program Follow-up Study. *Circulation* 1987;75:1102-9
11. The writing group for the PEPI trial. Effects of Estrogen or Estrogen/Progestin regimens on Heart Disease risk factors in postmenopausal Women. *JAMA* 1995;273:199-208
12. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 1999;340:1801-11
13. 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.* 2002; 288: 321–333
14. Gambacciani M, Ciapponi M, Cappagli B, Canussi B, De Simone L, Genazzani AR, Climacteric modifications in body weight and fat tissue distribution. *Climacteric.* 1999 Mar;2(1):37-44

15. Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Jun;88(6):2404-11
16. Rosano GM, Vitale C, Silvestri A, Fini M. The metabolic syndrome in women: implications for therapy. *Int J Clin Pract Suppl.* 2004 Mar;(139):20-5
17. Vitale C, Mercurio G, Cornoldi A, Fini M, Volterrani M, Rosano GM. Metformin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *J Intern Med.* 2005 Sep;258(3):250-6.
18. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med.* 2001 May 3;344(18):1343-50.
19. de Aloysio D, Gambacciani M, Meschia M et al. The effect of menopause on blood lipid and lipoprotein levels. *Atherosclerosis* 1999; 147: 147-153
20. Assmann G, Schulte H. The importance of triglycerides: results from the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) Study. *Eur J Epidemiol* 1992;8(suppl 1):99-103
21. Staessen JA, Celis H, Fagard R. The epidemiology of the association between hypertension and menopause. *J Hum Hypertens.* 1998 Sep;12(9):587-92.
22. Hu G; DECODE Study Group. Gender difference in all-cause and cardiovascular mortality related to hyperglycaemia and newly-diagnosed diabetes. *Diabetologia.* 2003 May;46(5):608-17.
23. Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, et al. Effects of estrogen replacement on the progression of coronary-artery atherosclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:522-529
24. Hsia J, Langer RD, Manson JE, Kuller L, Johnson KC, Hendrix SL, Pettinger M, Heckbert SR, Greep N, Crawford S, Eaton CB, Kostis JB, Caralis P, Prentice R; Women's Health Initiative Investigators. Conjugated equine estrogens and coronary heart disease: the Women's Health Initiative. *Arch Intern Med.* 2006 Feb 13;166(3):357-65.
25. Silvestri A, Gebara O, Vitale C, Wajngarten M, Leonardo F, Ramires JA, Fini M, Mercurio G, Rosano GM. Increased levels of C-reactive protein after oral hormone replacement therapy may not be related to an increased inflammatory response. *Circulation.* 2003 Jul 1;107(25):3165-9.
26. 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

27. Walsh BW, Paul S, Wild RA, Dean RA, Tracy RP, Cox DA, Anderson PW. The effects of hormone replacement therapy and raloxifene on C-reactive protein and homocysteine in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:214-8
28. Post WS, Goldschmidt-Clermont PJ, Wilhide CC, Heldman AW, Sussman MS, Ouyang P, Milliken EE, Issa JP. Methylation of the estrogen receptor gene is associated with aging and atherosclerosis in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*. 1999 Sep;43(4):985-91
29. Herrington DM, Espeland MA, Crouse JR 3rd, Robertson J, Riley WA, McBurnie MA, Burke GL. Estrogen replacement and brachial artery flow-mediated vasodilation in older women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Dec;21(12):1955-61.
30. Wassertheil-Smoller S, Anderson G, Psaty BM, Black HR, Manson J, Wong N, Francis J, Grimm R, Kotchen T, Langer R, Lasser N. Hypertension and its treatment in postmenopausal women: baseline data from the Women's Health Initiative. *Hypertension*. 2000 Nov;36(5):780-9.