

L'estrogeno naturale nella contraccezione ormonale: rivoluzione o evoluzione?

Anna Maria Paoletti, Mariagrazia Perseu, Marisa Orrù, Monica Pilloni, Maria Francesca Marotto, Maria Elena Malune, Manuela Neri, Stefania Cornacchia, Chiara Puletti, Pierina Zedda, Stefano Lello, Gian Benedetto Melis

CLINICA GINECOLOGICA ED OSTETRICA, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAGLIARI, DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIRURGICHE, SEZIONE MATERNO INFANTILE, AZIENDA OSPEDALIERO UNIVERSITARIA DI CAGLIARI, DIPARTIMENTO ASSISTENZIALE INTEGRATO (DAI) MATERNO INFANTILE

ABSTRACT

{ITA} La innovazione delle nuove preparazioni contraccettive è stata l'introduzione degli estrogeni naturali, quali l'estradiolo valerato (E2V) e l'estradiolo micronizzato (E2), per aumentare la sicurezza del preparato. Gli estrogeni naturali inducono minor sintesi di proteine a livello epatico, quali SHBG, angiotensinogeno e fattori coinvolti nel processo della coagulazione ed una minore interferenza sulla sintesi lipidica rispetto all'EE. L'utilizzo di questi composti ha reso necessario un adeguamento della componente progestinica, per correggere lo scarso controllo del ciclo fornito da preparati contenenti E2V o E2 al posto dell'EE. La scelta è quindi caduta su prodotti caratterizzati da un potente effetto progestinico a livello endometriale come il dienogest (DNG), che è stato associato all'E2V, e il NOMAC, estremamente sicuro dal punto di vista metabolico e cardiovascolare, in combinazione con E2. Il potente effetto progestinico a livello endometriale di entrambi questi prodotti determina una riduzione importante del sanguinamento da privazione fino alla sua possibile scomparsa, ponendo l'indicazione all'utilizzo di questi composti per il trattamento dei vari disordini del ciclo mestruale.

{ENG} The innovation of the latest contraceptive preparations is the use of natural estrogens such as valerate estradiol and micronized estradiol to improve the safety. The real advantage of the use of natural estrogens than EE is that they induce less epatic activity in regards to the synthesys of SHBG, angitensinogen and other factors. The use of such new estrogens has compelled the combination with more appropriate and potent progestins such as dienogest (DNG) and NOMAC, combined to valerate estradiol and to micronized estradiol respectively. Such specific combinations are able to minimize the bleeding up to induce endometrial atrophy and for this are more indicated for the treatment of menstrual disorders.

INTRODUZIONE

I contraccettivi orali (CO) sono la combinazione di un composto ad azione estrogenica e uno ad azione progestinica. Sebbene sia la componente progestinica quella deputata al meccanismo di inibizione dell'ovulazione, nella maggior parte dei CO al progestinico è associato un estrogeno sintetico, l'etinilestradiolo (EE), per garantire un effetto stabilizzante a livello dell'endometrio. Sin dalla introduzione dei CO sono stati sviluppati diversi progestinici, mentre la componente estrogenica è stata rappresentata per lungo tempo dal solo EE. Nel panorama dei CO è stata un'innovazione l'introduzione degli estrogeni naturali, quali l'estradiolo valerato (E2V) e l'estradiolo micronizzato (E2) al posto dell'EE, al fine di minimizzare ulteriormente gli effetti collaterali estrogeno correlati e di aumentare la sicurezza del preparato. L'E2V è la forma esterificata del 17 β -estradiolo (E2), il più potente estrogeno endogeno umano. Un mg di E2V equivale a 0.76 mg di E2. L'E2V è assorbito e metabolizzato a livello intestinale ed idrolizzato a E2 e acido valerianico a livello epatico. Il 95% dell'E2V è metabolizzato prima di entrare a far parte del circolo sistemico. A livello del circolo si trova in gran parte come estrone (E1), estrone solfato (ES) e estrone glucuronide (EG). Il 38% dell'E2 è legato alla proteina veicolante gli steroidi (Sex Hormone Binding Globuline, SHBG), il 60% all'albumina e

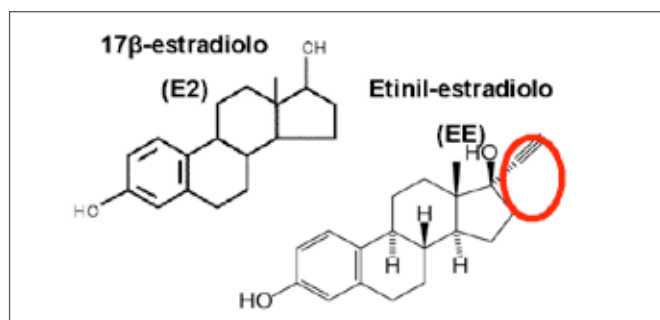


Figura 1. Differenze strutturali tra E2 e EE.

il 2-3% circola in forma libera. La sua biodisponibilità è meno del 10%. Di conseguenza, solo una piccola frazione di E2 esplica l'azione estrogenica. L'emivita varia da 13 a 20 ore, grazie al ricircolo entero-epatico e alla circolazione del pool di ES e EG, mentre l'E2 ha un'emivita plasmatica di 90 minuti. L'E2 e i suoi metaboliti sono prevalentemente escreti con le urine e meno del 10% con le feci. L'E2 ha un'azione inferiore rispetto all'EE per quanto concerne l'induzione di proteine a livello epatico (SHBG, Angiotensinogeno e fattori coinvolti nel processo della coagulazione ematica) perchè, al contrario dell'EE non ha il gruppo etinilico in posizione 17 che ne previene l'idrossilazione e la glicuroconiugazione epatica (1, Figura 1).

Inoltre, non interferisce come l'EE sulla sintesi di lipoproteine e trigliceridi [2, 3]. L'effetto sui lipidi sembra essere migliore con le formulazioni contenenti E2; da un confronto con EE 50 mcg, è emerso che l'utilizzo di 4 mg di E2 /2 mg estriolo (E3) si associa a riduzione del colesterolo totale, dei fosfolipidi e delle alfa-lipoproteine, mentre EE 50 mcg ad un aumento significativo di trigliceridi e beta-lipoproteine [4].

Il progresso compiuto nella componente estrogenica ha inevitabilmente coinvolto anche quella progestinica, con l'obiettivo di correggere lo scarso controllo del ciclo fornito da preparati contenenti E2V o E2 al posto dell'EE. I progestinici sono composti di sintesi derivati dal testosterone o dal progesterone (P). Nella contraccezione ormonale svolgono il ruolo di sopprimere l'ovulazione grazie alla loro azione progestinica, ma ogni molecola è caratterizzata da azioni diverse in base alla struttura chimica che la caratterizza. I progestinici meno recenti vengono classificati in tre generazioni in base allo steroide da cui derivano: P, 17-OH-P o testosterone; i progestinici più recenti sono rappresentati da drospironone (DRSP), dienogest (DNG) e Nomegestrolo Acetato (NOMAC). A tal proposito sono stati introdotti in associazione con E2V e E2 il DNG e il NOMAC, rispettivamente, entrambi caratterizzati da un potente effetto progestinico a livello endometriale.

Dal punto di vista dell'efficacia contraccettiva, l'effetto inibitorio sull'ovulazione di preparati contenenti estrogeni naturali era già stata documentata in studi pubblicati diversi anni fa; ciò che mancava a tali preparati era un controllo soddisfacente del ciclo, che ne ha impedito l'utilizzazione clinica [5-7]. Attualmente, grazie all'introduzione dei nuovi progestinici dotati di un potente effetto endometriale, l'utilizzo dell'estrogeno naturale in contraccezione è stato riproposto in due diverse formulazioni, la prima in un regime quadrifasico con associazione di E2V e DNG, la seconda in un regime monofasico con E2 1,5 mg e NOMAC 2.5 mg.

DIENOGEST

Il DNG è un derivato del noretisterone (NET). Similmente ai derivati del NET, il DNG ha un'elevata biodisponibilità (>90%), diversamente da quanto accade per altri derivati del P. Il DNG ha una breve emivita (circa 10 ore) che deriva dalla sua affinità con il NET. Lo steady state viene raggiunto in 2 giorni. Non ci sono effetti di accumulo e ciò è dovuto alla sua assente affinità per la SHBG. Conseguenza diretta di ciò è che il DNG non spiazzia il testosterone dal legame con le SHBG, il che lo differenzia dagli altri derivati del C-19 nortestosterone [8]. Il DNG non ha proprietà estrogeniche né androgeniche, mentre mostra attività di tipo antiandrogenico, grazie al gruppo cianmetilico in posizione 17 α (Figura 2).

Ha una scarsa attività glucocorticoidale, caratteristica importante per le ripercussioni in campo tromboembolico sia venoso che arterioso [8, 9]. La proprietà più importante è il suo potente effetto progestinico sull'endometrio, descritto in svariati studi inclusi studi istologici di sicurezza endometriale [10-12]. Il principale effetto del P è quello di indurre una modificazione in senso secretivo dell'endometrio. A lungo termine l'effetto del DNG è quello di indurre atrofia, ed è per questo motivo che il DNG è stato proposto per diversi utilizzi clinici, dalla contraccezione, alla menopausa e all'endometriosi [8, 10,11].

Il marcato effetto endometriale del DNG lo ha reso il pro-

gestinico ideale da associare al CO contenente l'E2V. Tutti i precedenti tentativi di introdurre gli estrogeni naturali nelle pillole contraccettive sono falliti a causa dello scarso controllo del ciclo fornito da questi preparati. L'associazione del DNG al E2V in un regime di tipo quadrifasico con uno "step down" della componente estrogenica e un contemporaneo "step up" di quella progestinica sembrerebbe invece in grado di conferire stabilità all'endometrio.

Il DNG inibisce la follicologenesi per lo più a livello periferico, mostrando soltanto deboli effetti centrali: trattando donne con cicli mestruali regolari con 2 mg/die di DNG, il P sierico si riduce a livelli anovulatori, ma non vi sono significative modificazioni dei livelli di FSH e di LH [13,14].

La stessa dose di 2 mg/die usata nel trattamento dell'endometriosi, nonostante inibisca l'ovulazione, permette un'attività follicolare sufficiente per mantenere l'E2 ai livelli della fase follicolare precoce (30-50 pg/ml). Tali livelli non riattivano le lesioni endometriosiche, ma sono sufficienti ad evitare le vampate di calore e la perdita di massa ossea [15].

La somministrazione di alte dosi giornaliere di DNG (20 mg/die) per 24 settimane non ha indotto effetti clinicamente rilevanti sul metabolismo lipidico, sugli enzimi epatici, sui parametri emostatici e sugli ormoni tiroidei [16].

ESTRADIOLO VALERATO/DIENOGEST

L'associazione di E2V e DNG è disponibile come contraccettivo ormonale in un articolato regime di tipo quadrifasico. L'effetto biologico di 2 mg/die di E2V corrisponde approssimativamente a 10 mcg di EE per quanto riguarda gli effetti a livello dell'asse ipotalamo ipofisi e per gli effetti a livello dei tessuti bersaglio periferici [17]. L'associazione con il DNG in un regime quadrifasico è finalizzata ad ottenere un preparato in grado di inibire l'ovulazione e minimizzare i sanguinamenti irregolari, oltre che dimostrare la migliore tollerabilità metabolica e sulla coagulazione rispetto ai preparati con l'EE. Lo schema prevede una progressiva riduzione della componente estrogenica associata ad un aumento del dosaggio del progestinico, seguiti da un breve periodo di hormone free-interval (2 giorni). Il razionale di tale regime consiste in una predominanza estrogenica iniziale finalizzata a preparare l'endometrio all'attività progestinica di metà ciclo; le crescenti dosi di DNG forniscono stabilità allo stroma endometriale, soprattutto nelle fasi intermedie e finali del ciclo. Il controllo del ciclo è un obiettivo da cui non è possibile prescindere nel-

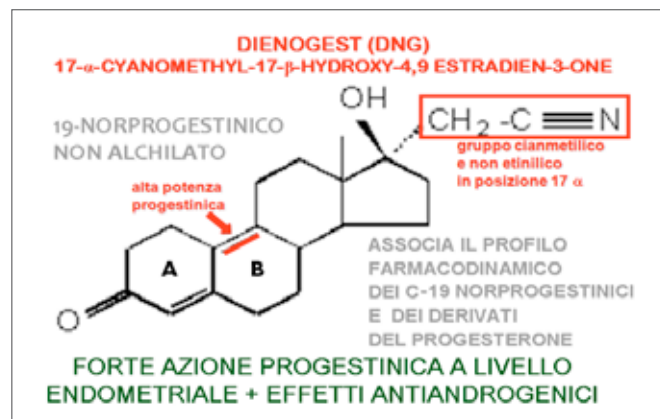


Figura 2. Formula di struttura del Dienogest

la formulazione di un nuovo contraccettivo, dal momento che rappresenta uno dei principali eventi avversi nei primi cicli di terapia (30-50%) e una delle principali cause di abbandono del metodo. Questo aspetto riveste ancora più importanza quando la componente estrogenica non è l'EE, ma un estrogeno naturale, meno potente dell'EE e, soprattutto, con una minore permanenza nel circolo epatico e sistemico. L'associazione del DNG in un regime quadrifasico ha permesso di risolvere in maniera più che soddisfacente questo aspetto. I dati raccolti hanno dimostrato un efficace controllo del ciclo; in particolare, si è evidenziato rispetto ad altri gruppi di pazienti trattate con altre formulazioni estroprogestiniche: minore percentuale di sanguinamenti programmati, maggiore insorgenza di amenorrea, minore durata e intensità del sanguinamento programmato. I sanguinamenti non programmati si sono verificati per lo più nel primo mese di trattamento; la maggior parte di tali episodi è stata definita come spotting o sanguinamento di leggera entità, di durata inferiore rispetto agli altri gruppi e contemporaneo miglioramento della dismenorrea [18-20].

Risulta implicita la possibilità di utilizzare questo contraccettivo nel trattamento dei flussi mestruali abbondanti (FMA), tanto che è stato dimostrato che l'efficacia di E2V/DNG per il trattamento dei FMA è significativamente più alta rispetto al placebo [21, 22], e per questo motivo E2V/DNG è stato registrato anche per il trattamento di tale disordine del ciclo mestruale. Per quanto riguarda l'effetto di E2V/DNG sul metabolismo glucidico, lipidico e sui fattori della coagulazione, è stato dimostrato che il suo impatto è inferiore rispetto al CO di riferimento che contiene quale progestinico il levonorgestrel [23, 24]. Recentemente è stato dimostrato che E2V/DNG è capace di migliorare la resistenza periferica all'insulina in giovani donne con PCOS [25]. Peraltro, lo scarso effetto del E2 sulle proteine epatiche, compresa la SHBG, e l'effetto del E2 a livello centrale e periferico giustificano i risultati ottimali ottenuti in corso di trattamento con E2V/DNG sui parametri della sessualità (desiderio, soddisfazione) [26].

NOMEGESTROLO ACETATO (NOMAC)

Il NOMAC è un derivato del 19-norP. Lo sviluppo di questo progestinico è stato incoraggiato alla luce dell'elevato profilo di sicurezza di questa molecola, soprattutto dal punto di vista cardiovascolare e metabolico, unito ad una potente attività progestinica, più marcata di quella del P naturale [27]. Il potente effetto progestinico, soprattutto a livello endometriale, ha reso il NOMAC un composto candidato all'utilizzo in associazione con E2 in un contraccettivo di tipo monofasico. Il NOMAC raggiunge la concentrazione di picco plasmatico (Cmax) dopo 2-3 ore. La biodisponibilità assoluta è approssimativamente del 65%. Circola nel plasma legato all'albumina, mentre non si lega alla SHBG. Viene metabolizzato a livello epatico dal sistema del citocromo P450 (CYP450). Il NOMAC è caratterizzato da una lunga emivita (circa 48 ore); nonostante ciò le concentrazioni plasmatiche si mantengono relativamente basse (4.5 ng/mL), anche se si può verificare un accumulo iniziale sino a 15 ng/mL [28]. In relazione alla sua struttura chimica (Figura 3), il NOMAC è un potente agonista recettoriale dei recettori del P ed ha attività antiestrogenica. Ha una moderata attività antiandrogenica e nessuna attività di tipo androgenico; non ha attività di tipo glucocorticoide e

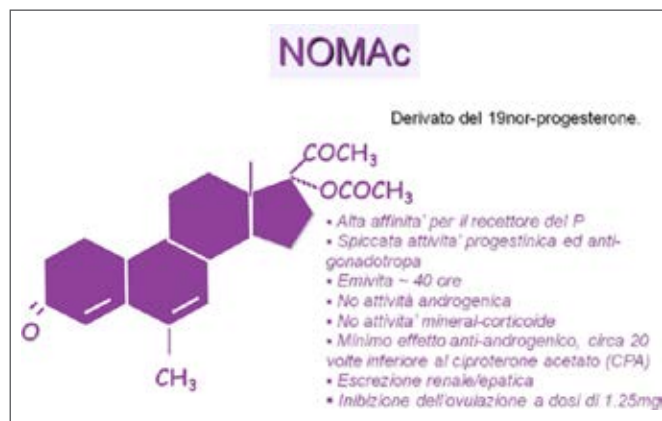


Figura 3. Formula di struttura del Nomegestrolo acetato

nessuna affinità per i recettori mineralcorticoidi [29-33].

La somministrazione di NOMAC 75 mcg/die tramite impianto sottocutaneo inibisce lo sviluppo della vascolarizzazione endometriale, sovvertendone l'architettura e rendendo l'endometrio inadatto all'impianto [34, 35].

In uno studio in aperto randomizzato, la somministrazione percutanea di E2 (1.5 mg/die dal giorno 1 al giorno 24) associato a NOMAC 5 mg/die (giorni 11-24) determina la trasformazione dell'endometrio in un endometrio di tipo secretivo inidoneo da sviluppo di iperplasia [36].

Il NOMAC alla dose di 1.25 mg/die inibisce efficacemente l'ovulazione e lo sviluppo follicolare; sopprime inoltre i picchi di LH, FSH e P; e riduce la frequenza della pulsilità del LH e la risposta del LH alla somministrazione esogena di GnRH [37, 38].

ESTRADIOLO/NOMAC

L'associazione di E2 1,5 mg /NOMAC 2,5 mg (E2/NOMAC) inibisce in modo efficace l'ovulazione e la crescita follicolare [39]. Lo schema di somministrazione 24/4 sembra maggiormente efficace rispetto al regime 21/7 [40]. Con questo regime, infatti, si riesce ad ottenere una più sostenuta inibizione dell'asse ipotalamo-ipofisario e della secrezione di estradiolo da parte dell'ovaio [40].

L'associazione E2/NOMAC sembra possedere un favorevole profilo metabolico: non modifica infatti i livelli di colesterolo totale, colesterolo HDL, colesterolo LDL e trigliceridi. Per quanto riguarda il versante glucidico, 6 cicli di trattamento con E2/NOMAC non hanno indotto modificazioni della risposta della glicemia e dell'insulina ad un carico orale di glucosio [40]. L'incremento della proteina C reattiva (indice di flogosi, marker del rischio cardiovascolare arterioso) è inferiore rispetto ad altri gruppi di trattamento [41]. E2 /NOMAC non modifica significativamente la pressione arteriosa [41].

Da un punto di vista emocoagulativo, E2/NOMAC non modifica i frammenti di protrombina 1 e 2, non modifica il D-dimero, non aumenta in modo significativo la resistenza alla proteina C attivata, modifica lievemente l'ATIII, la proteina C, i fattori II, VIIa e VIII, determina un minimo incremento del fattore VIIc [41, 42].

E2/NOMAC è dotato di un profilo favorevole dal punto di vista del rischio tromboembolico venoso. Recenti dati hanno, inoltre, confermato che l'assetto endocrino in corso di E2/NO-

MAC permette di mantenere un normale metabolismo osseo, tanto che dopo due anni di trattamento non si osserva alcuna modificazione della densità minerale ossea parimenti a un CO con EE e levonorgestrel [43].

Il motivo dello scarso controllo del ciclo esercitato dall'E2 utilizzato in contraccezione consiste nel fatto che a livello delle cellule endometriali i progestinici inducono la conversione dell'E2 in E1 attraverso la 17 estradiolo deidrogenasi di tipo 2. A causa della debolissima attività biologica dell'E1, la proliferazione endometriale si interrompe e causa sanguinamenti irregolari; tale reazione avviene solo in presenza dell'E2, poiché l'EE non è un substrato per tale reazione [44, 45]. E2/NOMAC sembra caratterizzarsi per un ridotto sanguinamento rispetto ad altri CO contenenti EE, sia in termini di durata che di entità, per un aumento di cicli con amenorrea e per una simile incidenza di sanguinamenti irregolari [46].

Lo studio che ha permesso la registrazione dell'E2/NOMAC ha dimostrato che tale CO ha un basso indice di Pearl, un controllo del ciclo ottimale, in considerazione del fatto che la frequenza dello spotting si riduce progressivamente nel corso dei

cicli di assunzione, mentre l'assenza del bleeding da privazione persiste per più tempo [47].

CONCLUSIONI

L'introduzione dei nuovi contraccettivi contenenti estrogeni naturali associati a DNG o NOMAC ha consentito un miglioramento della sicurezza metabolica ed emocoagulativa dei CO, tanto che oggi quando non esistano controindicazioni all'uso degli estrogeni, i CO con l'estrogeno naturale devono essere considerati di prima scelta. Per questi CO rimane un importante compito per il medico prescrittore: un corretto counselling che indichi alla donna la possibilità che non si verifichi il bleeding da privazione (la falsa mestruazione in corso del periodo libero dalla assunzione del CO). È verosimile che quando correttamente informata della non necessità del bleeding in corso di assunzione dei CO, la donna non possa che vedere in tale caratteristica un vantaggio piuttosto che uno svantaggio, proprio in relazione alle diverse problematiche che molte donne accusano in relazione al periodo peri e mestruale [48].

{BIBLIOGRAFIA}

1. Kuhn W, Gansau C, Mahler M. Pharmacokinetics of estradiol, free and total estrone, in young women following single intravenous and oral administration of 17 beta-estradiol. *Arzneimittelforschung*. 1993;43:966-73.
2. Guida M, Bifulco G, Di Spiezio Sardo A, Scala M, Fernandez LM, Nappi C. Review of the safety, efficacy and patient acceptability of the combined dienogest/estradiol valerate contraceptive pill. *Int J Womens Health*. 2010;2:279-90.
3. Fruzzetti F, Bitzer J. Review of clinical experience with estradiol in combined oral contraceptives. *Contraception*. 2010;81:8-15.
4. Bostofte E, Hemmingsen L, Møller KJ, Serup J, Weber T. Serum lipids and lipoproteins during treatment with oral contraceptives containing natural and synthetic oestrogens. A controlled double-blind investigation. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1978;87:855-64.
5. Serup J, Bostofte E, Larsen S, Westergaard J. Effectivity and acceptability of oral contraceptives containing natural and artificial estrogens in combination with a gestagen. A controlled double-blind investigation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1981;60:203-6.
6. Csemiczky G, Dieben T, Coeling Binnink HJ, Landgren BM. The pharmacodynamic effects of an oral contraceptive containing 3 mg micronized 17beta-estradiol and 0.150 mg desogestrel for 21 days, followed by 0.030 mg desogestrel only for 7 days. *Contraception*. 1996;54:333-8.
7. Hirvonen E, Allonen H, Anttila M, Kulmala Y, Ranta T, Rautiainen H, Sipilä P, Ylöstalo P. Oral contraceptive containing natural estradiol for premenopausal women. *Maturitas*. 1995;21:27-32.
8. Sitruk-Ware R. Pharmacological profile of progestins. *Maturitas*. 2008;61:151-7.
9. Sasagawa S, Shimizu Y, Kami H, Takeuchi T, Mita S, Imada K, Kato S, Mizuguchi K. Dienogest is a selective progesterone receptor agonist in transactivation analysis with potent oral endometrial activity due to its efficient pharmacokinetic profile. *Steroids*. 2008;73:222-31.
10. Gräser T, Müller A, Mellinger U, Mück AO, Lippert TH, Oettel M. Continuous-combined treatment of the menopause with combinations of oestradiol valerate and dienogest - a dose-ranging study. *Maturitas*. 2000;35:253-61.
11. Gräser T, Koytchev R, Müller A, Oettel M. Comparison of the efficacy and endometrial safety of two estradiol valerate/dienogest combinations and Kliogest for continuous combined hormone replacement therapy in postmenopausal women. *Climacteric*. 2000;3:109-18.
12. Bitzer J, Parke S, Roemer T, Serrani M. Endometrial safety of an oral contraceptive containing estradiol valerate and dienogest. *Int J Womens Health*. 2011;3:127-32.
13. Klipping C, Duijkers I, Remmers A, Faustmann T, Zurth C, Klein S, Schuett B. Ovulation-inhibiting effects of dienogest in a randomized, dose-controlled pharmacodynamic trial of healthy women. *J Clin Pharmacol*. 2012;52:1704-13.
14. Sasagawa S, Shimizu Y, Nagaoka T, Tokado H, Imada K, Mizuguchi K. Dienogest, a selective progestin, reduces plasma estradiol level through induction of apoptosis of granulosa cells in the ovarian dominant follicle without follicle-stimulating hormone suppression in monkeys. *J Endocrinol Invest*. 2008;31:636-41.
15. Strowitzki T, Marr J, Gerlinger C, Faustmann T, Seitz C. Dienogest is as effective as leuprolide acetate in treating the painful symptoms of endometriosis: a 24-week, randomized, multicentre, open-label trial. *Hum Reprod*. 2010;25:633-41.
16. Schindler AE, Henkel A, Moore C, Oettel M. Effect and safety of high-dose dienogest (20 mg/day) in the treatment of women with endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*. 2010;282:507-14.

17. Fruzzetti F, Trémollières F, Bitzer J. An overview of the development of combined oral contraceptives containing estradiol: focus on estradiol valerate/dienogest. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28:400-8.
18. Ahrendt HJ, Makalová D, Parke S, Mellinger U, Mansour D. Bleeding pattern and cycle control with an estradiol-based oral contraceptive: a seven-cycle, randomized comparative trial of estradiol valerate/dienogest and ethinyl estradiol/levonorgestrel. *Contraception*. 2009;80:436-44.
19. Hoy SM, Scott LJ. Estradiol valerate/dienogest: in oral contraception. *Drugs*. 2009;69:1635-46.
20. Ruan X, Seeger H, Mueck AO. The pharmacology of dienogest. *Maturitas*. 2012;71:337-44.
21. Rafie S, Borgelt L, Koepf ER, Temple-Cooper ME, Lehman KJ. Novel oral contraceptive for heavy menstrual bleeding: estradiol valerate and dienogest. *Int J Womens Health*. 2013;5:313-21.
22. Jensen J, et al. Effective treatment of heavy menstrual bleeding with estradiol valerate and dienogest: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2011;117:777-87.
23. Junge W, Mellinger U, Parke S, Serrani M. Metabolic and haemostatic effects of estradiol valerate/dienogest, a novel oral contraceptive: a randomized, open-label, single-centre study. *Clin Drug Investig*. 2011;31:573-84.
24. Klipping C, Duijkers I, Parke S, Mellinger U, Serrani M, Junge W. Hemostatic effects of a novel estradiol-based oral contraceptive: an open-label, randomized, crossover study of estradiol valerate/dienogest versus ethinylestradiol/levonorgestrel. *Drugs R D*. 2011;11:159-70.
25. De Leo V, Fruzzetti F, Musacchio MC, Scolaro V, Di Sabatino A, Morgante G. Effect of a new oral contraceptive with estradiol valerate/dienogest on carbohydrate metabolism. *Contraception*. 2013 Jun 13. pii: S0010-7824(12)00813-X. doi: 10.1016/j.contraception.2012.09.003. [Epub ahead of print]
26. Caruso S, Agnello C, Romano M, Cianci S, Lo Presti L, Malandrino C, Cianci A. Preliminary study on the effect of four-phasic estradiol valerate and dienogest (E2V/DNG) oral contraceptive on the quality of sexual life. *J Sex Med*. 2011;8:2841-50.
27. Lello S. Nomegestrol acetate: pharmacology, safety profile and therapeutic efficacy. *Drugs*. 2010;70:541-59.
28. Duc I, Botella J, Delansorne R, Paris J. Interaction of [3H]nomegestrol acetate with cytosolic progesterone receptors from the rat uterus. *Steroids*. 1991;56:325-8.
29. Botella J, Duc I, Delansorne R, Paris J, Lahlou B. Regulation of rat uterine steroid receptors by nomegestrol acetate, a new 19-nor-progesterone derivative. *J Pharmacol Exp Ther*. 1989;248:758-61.
30. Botella J, Paris J, Lahlou B. The cellular mechanism of the antiandrogenic action of nomegestrol acetate, a new 19-nor progestagen, on the rat prostate. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1987;115:544-50.
31. Duc I, Botella J, Bonnet P, Fraboul F, Delansorne R, Paris J. Antiandrogenic properties of nomegestrol acetate. *Arzneimittelforschung*. 1995;45:70-4.
32. Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini JR, Schweppe KW, Thijssen JH. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas*. 2003;46 Suppl 1:S7-S16.
33. Paris J, Botella J, Fournau P, Bonnet P, Thevenot R. Extinction of mineralocorticoid effects in 19-norprogesterone derivatives: structure-activity relationships. *J Pharmacol Exp Ther*. 1987;243:288-91.
34. Barbosa IC, Maia H Jr, Coutinho E, Lopes R, Lopes AC, Noronha C, Botto A. Effects of a single Silastic contraceptive implant containing nomegestrol acetate (Uniplant) on endometrial morphology and ovarian function for 1 year. *Contraception*. 2006;74:492-7.
35. Barbosa I, Coutinho E, Hirsch C, Ladipo O, Olsson SE, Ulmsten U. Effects of a single contraceptive Silastic implant containing nomegestrol acetate on ovarian function and cervical mucus production during 2 years. *ertil Steril*. 1996;65:724-9.
36. Foidart JM, Béliard A, Hedon B, Ochsenbein E, Bernard AM, Bergeron C, Thomas JL. Impact of percutaneous oestradiol gels in postmenopausal hormone replacement therapy on clinical symptoms and endometrium. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997;104:305-10.
37. Bazin B, Thevenot R, Bursaux C, Paris J. Effect of nomegestrol acetate, a new 19-nor-progesterone derivative, on pituitary-ovarian function in women. *Br J Obstet Gynaecol*. 1987;94:1199-204.
38. Couzinet B, Young J, Kujas M, Meduri G, Brailly S, Thomas JL, Chanson P, Schaison G. The antigonadotropic activity of a 19-nor-progesterone derivative is exerted both at the hypothalamic and pituitary levels in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:4191-6.
39. Chabbert-Buffet N, Chassard D, Ochsenbein E, Thomas JL, Christin-Maitre S. Inhibition of ovulation by NOMAC/E2, a novel monophasic oral contraceptive combining nomegestrol acetate and 17 β -oestradiol: a double-blind, randomised, dose-finding pilot study. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2011;16:76-84.
40. Christin-Maitre S, Serfaty D, Chabbert-Buffet N, Ochsenbein E, Chassard D, Thomas JL. Comparison of a 24-day and a 21-day pill regimen for the novel combined oral contraceptive, nomegestrol acetate and 17 β -estradiol (NOMAC/E2): a double-blind, randomized study. *Hum Reprod*. 2011;26:1338-47.
41. Ågren UM, Anttila M, Mäenpää-Liukko K, Rantala ML, Rautiainen H, Sommer WF, Mommers E. Effects of a monophasic combined oral contraceptive containing nomegestrol acetate and 17 β -oestradiol compared with one containing levonorgestrel and ethinylestradiol on haemostasis, lipids and carbohydrate metabolism. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2011;16:444-57.
42. Gaussem P, Alhenc-Gelas M, Thomas JL, Bachelot-Loza C, Remones V, Ali FD, Aiach M, Scarabin PY. Haemostatic effects of a new combined oral contraceptive, nomegestrol acetate/17 β -estradiol, compared with those of levonorgestrel/ethinyl estradiol. A double-blind, randomised study. *Thromb Haemost*. 2011;105:560-7.

43. Sørđal T, Grob P, Verhoeven C. Effects on bone mineral density of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel/17 β -estradiol in comparison to levonorgestrel/ethinylestradiol. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91:1279-85.
44. Gurside E, Marks C. Influence of endometrial 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity on the binding of estradiol to receptors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;52:252-5.
45. Yang S, Fang Z, Gurates B, Tamura M, Miller J, Ferrer K, Bulun SE.. Stromal PRs mediate induction of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in human endometrial epithelium: a paracrine mechanism for inactivation of E2. *Mol Endocrinol.* 2001;15:2093-105.
46. Duijkers IJ, Klipping C, Grob P, Korver T.. Effects of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel acetate and 17 beta-oestradiol on ovarian function in comparison to a monophasic combined oral contraceptive containing drospirenone and ethinylestradiol. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2010;15:314-25.
47. Mansour D, Verhoeven C, Sommer W, Weisberg E, Taneepanichskul S, Melis GB, Sundström-Poromaa I, Korver T.. Efficacy and tolerability of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel acetate and 17 β -oestradiol in a 24/4 regimen, in comparison to an oral contraceptive containing ethinylestradiol and drospirenone in a 21/7 regimen. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2011;16:430-43.
48. Coffee AL, Kuehl TJ, Willis S, Sulak PJ. Oral contraceptives and premenstrual symptoms: comparison of a 21/7 and extended regimen. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195:1311-9.