

L'estradiolo nella contraccezione ormonale: i vantaggi

Rachele Pastorino, Angelo Cagnacci

CLINICA UNIVERSITARIA DI GINECOLOGIA ED OSTETRICIA,
IRCCS OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO, GENOVA,
DINOEMI, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

ABSTRACT

{ITA} L'estradiolo (E2) fa parte degli estrogeni prodotti naturalmente dall'organismo, insieme a Estrone (E1), Estriolo (E3) ed Estetrolo (E4). Il suo utilizzo nella contraccezione, rispetto agli estrogeni sintetici come etinil-estradiolo (EE), presenta numerosi vantaggi, tra cui il minore effetto di induzione enzimatica a livello epatico e di conseguenza un impatto minore sull'emostasi, sul metabolismo lipidico e glucidico. Inoltre E2 ha dimostrato di avere effetti neuroprotettivi, neurotrofici e antiapoptotici sui neuroni. I COCs con E2 hanno un'efficacia contraccettiva paragonabile a quelli con EE e l'associazione con progestinici potenti come il DNG e NOMAC permette di avere un buon profilo di sanguinamento.

{ENG} Estradiol (E2) is one of estrogens naturally produced by human body, with estrone, estriol and estetrol. The use of E2 in contraceptive formulations, instead of synthetic estrogens like EE, has shown many advantages: it has a minor effect on enzymatic induction in the liver and as a result a minor impact on hemostasis, lipid, and glucose metabolism. Moreover, E2 has shown neuroprotective, neurotrophic, and anti-apoptotic effects on neurons. COCs with E2 have a contraceptive efficacy like those with EE and the association with potent progestins like DNG and NOMAC guarantees a good bleeding profile.

INTRODUZIONE

I contraccettivi orali combinati (COCs) contengono un'associazione di un estrogeno e un progestinico e sono ampiamente utilizzati e ben accettati dalle donne. I primi contraccettivi utilizzati negli anni '50 erano a base di solo progestinico, che è la componente fondamentale per inibire l'ovulazione; studi successivi dimostrarono che la combinazione di una piccola concentrazione di estrogeno con il progestinico induceva sia l'inibizione dell'ovulazione sia il mantenimento di una regolare ciclicità mestruale. Inizialmente l'estrogeno utilizzato era il mestranolo, sostituito poi dall'etinil-estradiolo (EE), un estrogeno di sintesi predominante nei COCs per molti anni [1,2]. Successivamente si fece spazio l'utilizzo dell'estradiolo (E2), estrogeno prodotto dalle cellule della granulosa dell'ovaio, dal corpo luteo e dalla placenta, e in misura minore da fegato, surreni e ghiandole mammarie [3,4]. Gli estrogeni naturalmente prodotti dall'organismo umano sono rappresentati da estrone (E1), estradiolo (17-beta estradiolo o E2), estriolo (E3) ed estetrolo (E4), entrato a far parte recentemente delle formulazioni contraccettive.

L'estradiolo è il più potente estrogeno umano e presenta un gruppo idrossile in posizione 17 beta. Per l'assunzione orale l'estradiolo è utilizzato in due forme: estradiolo micronizzato (a più rapido assorbimento e maggiore biodisponibilità) ed estradiolo valerato (estradiolo esterificato con un acido valerianico in posizione C-17, che ne ritarda il metabolismo ad estrone). Dopo l'assunzione entrambe le forme vengono idrolizzate a estradiolo, che viene rapidamente assorbito, con una

biodisponibilità del 5%. E2 viene poi metabolizzato a estrone (un estrogeno debole con solo il 4% dell'attività estrogenica dell'E2) dall'enzima 17beta-idrossisteroide deidrogenasi (17 β HSD), e in estrone solfato ed estrone glucuronide (metaboliti inattivi). Nel circolo ematico il 37% dell'estradiolo è legato ad alta affinità alle SHBG (Sex Hormone Binding Globulin), il 61 % è legato all'albumina e solo il 2% è libero. Le percentuali biologicamente attive (e quindi metabolizzate) sono quella le-

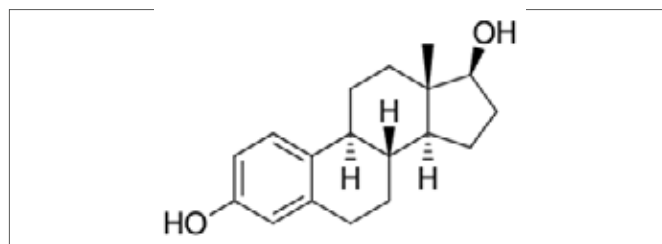


Fig. 1 - Formula dell'estradiolo (E2)

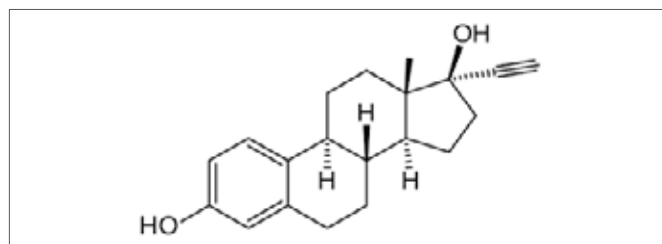


Fig. 2 - Formula dell'etinil-estradiolo (EE).

	EE	E2
Emivita plasmatica	36 +/- 13 h	90 minuti
Legame SHBG	----	37 %
Legame albumina	98,5 %	61 %
Biodisponibilità	38 - 48 %	5 %
Induzione SHBG	600	1
Induzione CBG	400	1
Induzione AT	350	1

Fig. 3: Confronto della farmacocinetica di EE ed E2.

gata all'albumina e quella libera. E2 ha un'emivita plasmatica di circa 90 minuti [1,5].

L'etinilestradiolo (EE) è un derivato dall'estradiolo caratterizzato dalla sostituzione di un atomo di idrogeno con un radicale etinile in posizione 17- alfa, che gli conferisce una maggiore resistenza alla degradazione intestinale ed epatica. Viene rapidamente assorbito a livello dell'intestino tenue con un picco plasmatico di circa 2 ore dopo l'assunzione orale.

Nel sangue si lega per il 98,5% all'albumina, mentre non ha affinità per SHBG. La sua biodisponibilità è del 38-48 %. La presenza del radicale etinile interferisce a livello epatico con i processi di idrossilazione e ossidazione dell'anello aromatico (nessun impatto della 17 β HSD), con un ricircolo entero-epatico prolungato e un'emivita di 36 ore (+/- 13 ore).

Gli estrogeni inducono sintesi di proteine epatiche come fattori della coagulazione e fibrinolitici, angiotensinogeno, SHBG, cortisol-binding globulin (CBG) e lipoproteine. A livello coagulativo inducono un aumento del fattore IX, fattore di von Willebrand, complesso trombina-antitrombina, D-dimero e una riduzione di fibrinogeno, antitrombina, proteine C ed S, t-PA (tissue plasminogen activator) e PAI (inibitore dell'attivatore del plasminogeno) [5-7].

Molti studi hanno dimostrato che anche un moderato aumento dei livelli plasmatici di protrombina, fattore VIII, fattore IX, fibrinogeno o la diminuzione di antitrombina, tissue factor inhibitor (TFPI), proteina S o proteina C interferiscono con il delicato equilibrio tra i sistemi di coagulazione e anticoagulazione e, di conseguenza, possono portare a sviluppo di TV (trombosi venosa).

È stato visto che i cambiamenti nei livelli di SHBG sono associati positivamente con l'aumento del rischio di TV ormono-indotta. Perciò, sebbene non direttamente correlati al sistema emostatico, i livelli plasmatici di SHBG sono stati proposti come un surrogato di marker per il rischio di TV nelle utilizzatrici di contraccettivi ormonali. [8]. L'intake orale di EE da solo porta a un significativo aumento dose-dipendente delle SHBG [9]. Cambiamenti nelle concentrazioni sieriche di SHBG sono correlate in maniera inversamente proporzionale ai cambiamenti nella resistenza alla APC (proteina C reattiva) [10]: tale resistenza, misurata con il metodo del potenziale endogeno della trombina, è associata con un aumento del rischio di trombosi venosa e può essere utilizzata per prevedere il rischio di TEV (tromboembolismo venoso) [11].

EMOSTASI E TROMBOEMBOLISMO VENOSO

Il tromboembolismo venoso (TEV) è una condizione multifattoriale o multigenica, e la sua ricorrenza aumenta quando è

presente più di un fattore di rischio. I fattori di rischio includono fattori acquisiti (chirurgia maggiore, traumi, neoplasie, stroke, trombofilie acquisite, patologie autoimmuni, obesità, gravidanza, post-partum, contraccettivi ormonali e terapie ormonali sostitutive, immobilizzazione) e fattori congeniti (fattore V di Leiden, deficit di antitrombina, di proteina C e proteina S,..). I COCs appartengono al gruppo di fattori di rischio moderato per TEV [12]. I contraccettivi orali, a differenza delle terapie ormonali sostitutive post-menopausali, vengono utilizzati da donne giovani, per cui il rischio di base di trombosi venosa (tra le non utilizzatrici) è basso; il rischio nelle utilizzatrici, sebbene aumentato, rimane basso in termini assoluti [13]. Il tromboembolismo venoso è raro tra le giovani donne in età riproduttiva, con un'incidenza di 1-5 eventi /10000 donne/anno. I contraccettivi combinati estro-progestinici (CEPC), orali e non orali, aumentano il rischio di TEV, incluso il tromboembolismo venoso profondo e l'embolia polmonare. Il rischio è basso (5-12 eventi /10000 donne per anno di esposizione) [14] e per la maggior parte delle donne questi rischi sono talmente bassi da essere accettati, vengono considerati meno importanti rispetto ai benefici dei contraccettivi orali. Il rischio di trombosi venosa è maggiore durante il primo anno di utilizzo [13]. In ogni caso non c'è un aumento del rischio associato alla durata dell'utilizzo e il rischio ritorna pari a quello delle non utilizzatrici tre mesi dopo la sospensione [15].

Il rischio di conclamato tromboembolismo venoso sembra correlato primariamente alla componente estrogenica dei COCs e ristretto al periodo di utilizzo [16].

Per minimizzare il rischio cardio-vascolare in donne utilizzatrici di contraccettivi orali negli anni '70 è nato il concetto di utilizzare E2 nei contraccettivi combinati.

EE ha dimostrato di aumentare i livelli di proteine epatiche maggiormente rispetto a E2, in particolare le proteine coinvolte nell'emostasi: EE aumenta SHBG, CBG e angiotensinogeno rispettivamente 600, 500 e 350 volte di più rispetto ad E2. Questo è il risultato di un rebound dei livelli ematici di estrogeno, che ha un forte impatto sulle proteine epatiche. Questo ampio riassorbimento di EE è stato associato con un aumentato rischio di TEV [12, 17]. Inoltre è stato documentato che sia le alterazioni della cascata coagulativa sia il rischio di tromboembolismo venoso, trombosi venosa profonda ed embolia polmonare sono diminuiti in donne che utilizzano COC contenenti estrogeni naturali (E2, E2V, E4) [18].

E2 NEI COC

E2 viene utilizzato nei contraccettivi orali associato a nomegestrolo acetato (NOMAC) in regime monofasico 24+4 o come E2V associato al dienogest (DNG) in un regime quadrifasico 26+2. L'impatto sul metabolismo lipidico e sul sistema emostatico di queste preparazioni sembra essere minore rispetto a quello delle preparazioni con EE [19].

NOMEGESTROLO ACETATO (NOMAC)

NOMAC è un derivato del 19 norprogesterone. Lega con alta affinità i recettori del progesterone. Non ha effetti estrogenici, androgenici, mineralcorticoidi o glucocorticoidi e ha un moderato effetto antiandrogenico. Ha un'emivita prolungata rispetto ad altri progestinici, circa 46 ore. La biodisponibilità assoluta è approssimativamente del 65 %. Circola nel plasma legato

all'albumina, mentre non si lega a SHBG. Ha un effetto neutro sui livelli ematici di glucosio e lipidi. Al dosaggio di 1.25 mg/die inibisce l'ovulazione ma permette la crescita follicolare. La dose minima necessaria ad inibire l'ovulazione e la follicologenesi è di 2.5 mg. [17,20].

DIENOGEST

Il Dienogest è un progestinico ibrido che combina le proprietà dei derivati del 19-nortestosterone e dei derivati del progesterone; deriva dal gruppo estrano con un radicale 17-cianometile. Ha un'elevata attività progestinica. La sua biodisponibilità orale è circa del 90% e le concentrazioni sieriche massime vengono raggiunte dopo circa 2 ore. Lega per il 90% l'albumina mentre non lega SHBG. L'emivita è di 6-12 ore. Non possiede attività glucocorticoide, mineralcorticoide e androgenica mentre ha attività antiandrogenica. Ha un potente effetto progestinico sull'endometrio e a lungo termine induce atrofia [20-22].

EFFETTI DEI COC CONTENENTI ESTRADIOLO EMOSTASI

I contraccettivi estro-progestinici combinati (CEPCs) con E2 sembrano ridurre significativamente il carico globale di VTE legato all'uso della contraccezione e possono essere utilizzati al posto di EE/LNG [14].

Uno studio randomizzato del 2011 ha osservato una differenza significativa tra E2/NOMAC e EE/LNG per gli effetti su diversi markers coagulativi e fibrinolitici dopo 3 mesi di trattamento. Con EE/LNG c'era un aumento di diversi markers procoagulativi (frammenti della protrombina 1+2, resistenza ad APC, fibrinogeno, fattore II e VIII) e del turnover della fibrina (D-dimero, plasminogeno), più una riduzione in alcuni markers anticoagulativi (antitrombina, TFPI) e PAI-1. I cambiamenti dei livelli di frammenti della protrombina 1+2, resistenza ad APC, fattore II, plasminogeno, antitrombina, proteina S libera e PAI-1 era significativamente minori con E2/NOMAC rispetto a EE/LNG. E2/NOMAC ha un effetto minimo sul turnover della trombina e riduce piuttosto che incrementare i livelli di D-dimero [11].

In un altro studio è stato osservato che EV/DNG ha un impatto sui parametri emostatici simile o inferiore rispetto ai COC monofasici contenenti EE/LNG dopo 3 cicli di trattamento. Questo è dimostrato da un incremento significativamente minore del D-dimero (37% E2/DNG, 88% EE/LNG) e da un aumento meno spiccato nei livelli di protrombina e fibrinogeno. Il ridotto impatto di E2/DNG sui parametri emostatici è probabilmente dovuto all'utilizzo di E2 rispetto a EE come estrogeno: E2 è molto meno potente rispetto all'EE [23]. Il tasso di incidenza di VTE, ATE (tromboembolismo arterioso) e gravi effetti cardio-vascolari è minore per EV/DNG rispetto ad altri COC ed a quelli contenenti LNG [24].

METABOLISMO LIPIDICO

È stato osservato, durante il trattamento con estrogeni sintetici, un aumento dei trigliceridi sierici, mentre non vi erano importanti cambiamenti con gli estrogeni naturali. Gli estrogeni naturali inoltre riducono i fosfolipidi e il colesterolo sierici in maniera significativa. Durante il trattamento con estrogeni sintetici si è visto inoltre un aumento importante delle β -lipoproteine, mentre con gli estrogeni naturali si osservava una riduzione non significativa di tali proteine. Quindi gli

estrogeni naturali inducono cambiamenti nei lipidi e lipoproteine sieriche meno significativi e più benigni rispetto agli estrogeni sintetici (etinilestradiolo) in merito a un possibile effetto collaterale trombotico [25].

L'introduzione dei contraccettivi basati su E2 ha ridotto di molto la potenza estrogenica dei COC, evitando effetti significativi sul metabolismo lipidico. Questo è stato dimostrato in un trial prospettico per E2/DNG comparato a EE/CMA (clormadinone acetato): E2V/DNG non impatta il metabolismo lipidico. HDL, LDL, colesterolo totale/HDL, LDL/HDL, Apo-A1, Apo-B e Apo-B/Apo-A1 rimanevano immutati dopo 3 cicli di trattamento. La non modificazione dei lipidi osservata durante la somministrazione di E2V associato a DNG può essere interpretata come la non capacità dell'estrogeno debole E2V di modificare il profilo lipoproteico. Similmente la combinazione E2/NOMAC non induce cambiamenti nel metabolismo lipidico [19].

METABOLISMO GLUCIDICO

E2 promuove l'omeostasi energetica, migliora la distribuzione del grasso corporeo, migliora l'insulino-resistenza (o aumenta la sensibilità all'insulina), migliora la funzione delle β -cellule pancreatiche e riduce l'infiammazione [26].

E2/NOMAC ha mostrato un impatto significativamente minore sul metabolismo glucidico rispetto a EE/LNG. EE/LNG è stato associato con un significativo aumento significativo della sensibilità all'insulina e maggiori livelli di glucosio rispetto a E2/NOMAC. I COC contenenti E2 non sembrano impattare negativamente il metabolismo glucidico e insulinico [19].

EFFETTI SUL SNC

Gli estrogeni sono degli efficaci neuroprotettori in vitro e in vivo [27]. Il meccanismo neuroprotettivo dell'estradiolo può essere diviso in due parti: locale, esercitato direttamente nel sistema nervoso, e periferico, esercitato in altri tessuti, come la regolazione sistemica del metabolismo e del sistema cardiovascolare. Gli effetti ormonali sul sistema cardiovascolare faciliterebbero la vascolarizzazione cerebrale e di conseguenza proteggerebbero i neuroni e la glia dall'ischemia [28].

Gli estrogeni si legano a ER (recettori per gli estrogeni), fattori di trascrizione ligando-attivati che sono espressi in organi estrogeno-sensibili e in specifiche aree target del sistema nervoso [28]. A livello cerebrale vengono espressi ER α e ER β , le due isoforme di ER [27]. Le regioni con maggior densità di ER sono il prosencefalo, l'area preottica, l'ipotalamo, l'amigdala (in particolare nelle aree di queste regioni che sono vitali per le funzioni riproduttive) e il sistema nervoso periferico, nei gangli delle radici dorsali [28]. ER β è altamente espresso nella corteccia e nell'ippocampo [27].

L'effetto protettivo degli estrogeni avrebbe luogo in parte attraverso pathway genomici che coinvolgono l'attivazione degli ER [27]. Il più potente attivatore del pathway genomico classico è il 17 β -estradiolo [27]. Potenziali geni target neuroprotettivi indotti dagli estrogeni includono fattori neurotrofici, come nerve growth factor, brain derived neurotrophic factor (BDNF), neurotrofine 3 e 4 e insulin-like growth factor 1 (IGF-1), così come i loro recettori [27]. Ulteriori geni target implicati nella neuroprotezione estrogeno-mediata sono associati all'apoptosi; gli estrogeni salverebbero i neuroni attraverso

l'induzione di proteine antiapoptotiche come Bcl-2 e Bcl-x, down-regulation di proteine apoptotiche come BAX o induzione di inibitori contro le caspasi [27].

I pathway di segnalazione non genomici (o alternativi), che includono ER extranucleari o funzionano indipendentemente dal legame con ER, rispondono agli estrogeni ed elicitano la neuroprotezione [27].

Gli estrogeni hanno un effetto antiossidante ER-indipendente, dovuto principalmente alla capacità diretta di scavenging dei radicali liberi, ma sembrano coinvolti anche meccanismi indiretti, come l'up-regulation di enzimi antiossidanti e chelazione di ioni metallici redox-active [27].

Gli estrogeni mediano anche gli eventi infiammatori: sopprimono l'induzione del pathway della ciclossigenasi 2 mediata dall'interleuchina 1 β (IL-1 β) nei vasi cerebrali, prevengono la migrazione e l'attivazione della microglia nel SNC a seguito di stimoli infiammatori e il reclutamento di monociti periferici; questi effetti sono indotti dall'attivazione di ER α e riducono l'espressione di mediatori neuroinfiammatori [27]. Inoltre down-regolano la proliferazione degli astrociti dopo una lesione e l'accumulo di astrociti reattivi in aree cerebrali lesionate [28]. Recenti evidenze suggeriscono che l'estradiolo è non solo protettivo ma attiverebbe anche dei processi rigenerativi nel sistema nervoso: protegge i neuroni dall'ischemia cerebrale prima riducendo l'apoptosi e poi facilitando l'incorporazione di neuroni di nuova genesi dalla zona subventricolare alle regioni ischemiche [29]; inoltre induce l'espressione della proteina tau negli assoni e questo comporterebbe la stabilizzazione dei microtubuli e la promozione della crescita assonale [28].

ER α interagisce anche con recettori di membrana, come IGF1R (recettore per IGF1). L'estradiolo induce l'incorporazione di ER α in complessi macromolecolari in cui sono associati IGF1R e diverse componenti del signaling di IGF1R. Questa azione ormonale promuove la neuroprotezione, migliora l'omeostasi cerebrale e riduce la fosforilazione tau [29].

Inoltre l'estradiolo riduce, almeno in parte, la perdita di oligodendrociti e la demielinizzazione e facilita la rimielinizzazione. Questa azione sembra mediata dal controllo ormonale di cellule immunitarie periferiche e dall'azione diretta sugli oligodendrociti stessi [29].

L'estradiolo interagirebbe con siti di legame per gli estrogeni

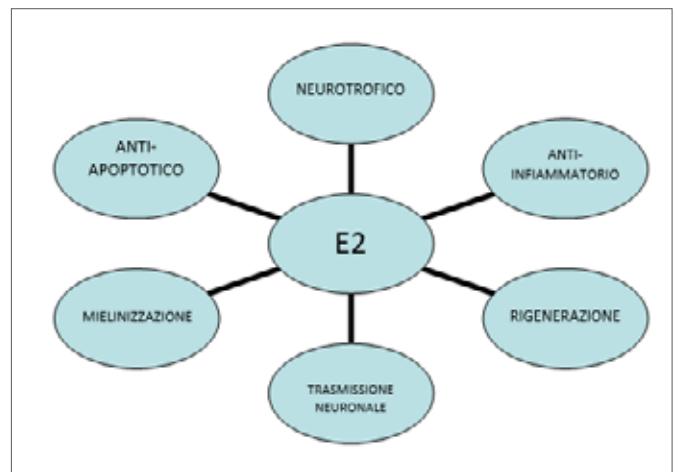


Fig. 3: Confronto della farmacocinetica di EE ed E2.

ni sulla membrana plasmatica e avrebbe diversi effetti rapidi sull'eccitabilità e sulla trasmissione neuronale [28].

CONCLUSIONI

L'utilizzo di E2 nei contraccettivi combinati presenta numerosi vantaggi rispetto all'utilizzo di estrogeni sintetici come EE: oltre ad essere una molecola naturale, ha un impatto significativamente minore sulla sintesi epatica di diverse proteine, in particolare fattori coinvolti nell'emostasi. I nuovi COCs contenenti estradiolo sembrano avere un minor rischio di TEV rispetto ai COCs contenenti EE [30]. Inoltre i COCs contenenti E2 hanno dimostrato un effetto neutro sul metabolismo lipidico, glucidico e sulla sensibilità all'insulina.

E2 ha proprietà neuroprotettive, dimostrando in vitro e in vivo attività neurotrofiche e anti-apoptotiche mediante attivazione genica ma anche attività antiinfiammatorie, antiossidanti e rigenerative. I COCs contenenti EE invece, nella maggior parte delle donne, non influenzano le funzioni neurologiche o psicologiche [31]. E2 e E2V, in combinazione con un progestinico, hanno dimostrato di fornire un'efficacia contraccettiva simile ai COCs con EE a basse dosi [31]. I contraccettivi a base di E2 spesso avevano un cattivo controllo del ciclo e un profilo di sanguinamento inaccettabile, ma questo problema è stato risolto con l'associazione di progestinici con un'elevata potenza a livello endometriale, come NOMAC e DNG [6,18].

{BIBLIOGRAFIA}

1. Fruzzetti F & Bitzer J. Review of clinical experience with estradiol in combined oral contraceptives. *Contraception* 2010;81:8-15.
2. Pincus G et al. Effectiveness of an oral contraceptive. *Science* 1959;30:81-3.
3. Grandi G, Facchinetti F, Bitzer J. Estradiol in hormonal contraception: real evolution or just same old wine in a new bottle? *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2017 Aug;22(4):245-246. doi: 10.1080/13625187.2017.1372571. Epub 2017 Sep 13. PMID: 28902531.
4. Kumar A, Banerjee A, Singh D, Thakur G, Kasarpalkar N, Gavali S, Gadkar S, Madan T, Mahale SD, Balasinar NH, Sachdeva G. Estradiol: A Steroid with Multiple Facets. *Horm Metab Res*. 2018 May;50(5):359-374. doi: 10.1055/s-0044-100920. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29566418.]
5. Kuhl H. Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. *Climacteric*. 2005 Aug;8 Suppl 1:3-63. doi: 10.1080/13697130500148875. PMID: 16112947.
6. Trémollières F. Contraception orale estro-progestative: quelle différence entre éthinylestradiol et estradiol? [Oral combined contraception: is there any difference between ethinyl-estradiol and estradiol?]. *Gynecol Obstet Fertil*. 2012 Feb;40(2):109-15. French. doi: 10.1016/j.gyobfe.2011.10.009. Epub 2012 Jan 12. PMID: 22244780.
7. Pérez-Campos EF. Ethinylestradiol/dienogest in oral contraception. *Drugs*. 2010 Apr 16;70(6):681-9. doi: 10.2165/11536320-

- 000000000-00000. PMID: 20394455.
8. Tchaikovski SN, Rosing J. Mechanisms of estrogen-induced venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2010 Jul;126(1):5-11. doi: 10.1016/j.thromres.2010.01.045. Epub 2010 Feb 16. PMID: 20163835.
 9. Morimont L, Haguet H, Dogné JM, Gaspard U, Douxfils J. Combined Oral Contraceptives and Venous Thromboembolism: Review and Perspective to Mitigate the Risk. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Dec 9;12:769187. doi: 10.3389/fendo.2021.769187. PMID: 34956081; PMCID: PMC8697849.
 10. Van Rooijen M, Silveira A, Hamsten A, Bremme K. Sex hormone--binding globulin--a surrogate marker for the prothrombotic effects of combined oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Feb;190(2):332-7. doi: 10.1016/s0002-9378(03)00950-5. PMID: 14981370
 11. 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, norgestrel acetate/17 β -estradiol, compared with those of levonorgestrel/ethinyl estradiol. A double-blind, randomised study. *Thromb Haemost.* 2011 Mar;105(3):560-7. doi: 10.1160/TH10-05-0327. Epub 2011 Jan 12. PMID: 21225090.
 12. Lete I, Chabbert-Buffet N, Jamin C, Lello S, Lobo P, Nappi RE, Pintiaux A. Haemostatic and metabolic impact of estradiol pills and drospirenone-containing ethinylestradiol pills vs. levonorgestrel-containing ethinylestradiol pills: A literature review. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2015;20:329-43.
 13. Rosendaal FR, Van Hylckama Vlieg A, Tanis BC, Helmerhorst FM. Estrogens, progestogens and thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2003 Jul;1(7):1371-80. doi: 10.1046/j.1538-7836.2003.00264.x. PMID: 12871270
 14. Fruzzetti F, Cagnacci A. Venous thrombosis and hormonal contraception: what's new with estradiol-based hormonal contraceptives? *Open Access J Contracept.* 2018 Nov 8;9:75-79. doi: 10.2147/OAJC.S179673. PMID: 30519125; PMCID: PMC6239102.
 15. Martínez F, AVECILLA A. Combined hormonal contraception and venous thromboembolism. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2007 Jun;12(2):97-106. doi: 10.1080/13625180701300194. PMID: 17559006
 16. Bonnar J. Coagulation effects of oral contraception. *Am J Obstet Gynecol.* 1987 Oct;157(4 Pt 2):1042-8. doi: 10.1016/s0002-9378(87)80129-1. PMID: 2960241.
 17. Christin-Maitre S, Laroche E, Bricaire L. A new contraceptive pill containing 17 β -estradiol and norgestrel acetate. *Womens Health (Lond).* 2013 Jan;9(1):13-23. doi: 10.2217/whe.12.70. PMID: 23241152.
 18. Farris M, Bastianelli C, Rosato E, Brosens I, Benagiano G. Pharmacodynamics of combined estrogen-progestin oral contraceptives: 2. effects on hemostasis. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2017 Oct;10(10):1129-1144. doi: 10.1080/17512433.2017.1356718. Epub 2017 Aug 7. PMID: 28712325.
 19. Giovanni Grandi, Antonella Napolitano & Angelo Cagnacci (2016): Metabolic impact of combined hormonal contraceptives containing estradiol, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, DOI: 10.1080/17425255.2016.1190832
 20. Paoletti AM, Perseu M, Orrù M, Pilloni M et al L'estrogeno naturale nella contraccezione ormonale: rivoluzione o evoluzione? *Bollettino di Ginecologia Endocrinologica*, Vol 7:47-52, 2013
 21. Foster RH, Wilde MI. Dienogest. *Drugs.* 1998 Nov;56(5):825-33; discussion 834-5. doi: 10.2165/00003495-199856050-00007. PMID: 9829156.
 22. Sitruk-Ware R. Pharmacological profile of progestins. *Maturitas.* 2004 Apr 15;47(4):277-83. doi: 10.1016/j.maturitas.2004.01.001. PMID: 15063480.
 23. 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(2):159-70. doi: 10.2165/11591200-000000000-00000. PMID: 21679006; PMCID: PMC3585947.
 24. Dinger J, Do Minh T, Heinemann K. Impact of estrogen type on cardiovascular safety of combined oral contraceptives. *Contraception.* 2016 Oct;94(4):328-39. doi: 10.1016/j.contraception.2016.06.010. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27343748.
 25. 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 Apr;87(4):855-64. doi: 10.1530/acta.0.0870855. PMID: 347855.
 26. Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocr Rev.* 2013 Jun;34(3):309-38. doi: 10.1210/er.2012-1055. Epub 2013 Mar 4. PMID: 23460719; PMCID: PMC3660717.
 27. Prokai L, Simpkins JW. Structure-nongenomic neuroprotection relationship of estrogens and estrogen-derived compounds. *Pharmacol Ther.* 2007 Apr;114(1):1-12. doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.01.006. Epub 2007 Feb 2. PMID: 17336390; PMCID: PMC1905848.
 28. Garcia-Segura LM, Azcoitia I, DonCarlos LL. Neuroprotection by estradiol. *Prog Neurobiol.* 2001 Jan;63(1):29-60. doi: 10.1016/s0301-0082(00)00025-3. PMID: 11040417.
 29. Azcoitia I, Arevalo MA, De Nicola AF, Garcia-Segura LM. Neuroprotective actions of estradiol revisited. *Trends Endocrinol Metab.* 2011 Dec;22(12):467-73. doi: 10.1016/j.tem.2011.08.002. Epub 2011 Aug 31. PMID: 21889354.
 30. Khialani D, Rosendaal F, Vlieg AVH. Hormonal Contraceptives and the Risk of Venous Thrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 2020 Nov;46(8):865-871. doi: 10.1055/s-0040-1715793. Epub 2020 Oct 5. PMID: 33017848.
 31. Stanczyk FZ, Archer DF, Bhavnani BR. Ethinyl estradiol and 17 β -estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assessment. *Contraception.* 2013 Jun;87(6):706-27. doi: 10.1016/j.contraception.2012.12.011. Epub 2013 Jan 8. PMID: 23375353.