

MODIFICAZIONI DELL'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-OVAIO IN PREMENOPAUSA

Chiara Lanzoni, Federica Ricchieri, Susanna Santagni, Erika Rattighieri,
Elisa Chierchia, Alessandro D. Genazzani

Clinica Ostetrica Ginecologica, Università di Modena e Reggio Emilia

Indirizzo per corrispondenza: Dott.ssa Chiara Lanzoni
Clinica Ostetrica Ginecologica, Università di Modena
Via del Pozzo 71, 41100 Modena (MO) Italia
tel: +39 059 4222278 ; fax: +39 059 4224394; e-mail: chialanz@libero.it

ABSTRACT

It is commonly believed that a disruption in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis is responsible for the onset of menopause. Data exist to demonstrate that the first signs of menopause occur at the level of the brain (ageing) and in the meantime at the ovarian level. There is a gradual decline in the function of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis ultimately resulting in irregularities in menstrual cycles and increasing sporadic incidence of ovulation. The depletion of follicular reserve and subsequent loss of fertility provide explanation for how menopause occurs. The follicular or ovarian reserve provides an exhaustible resource of oocytes and follicles that is established at or around the time of birth. The ovarian follicular reserve declines during aging and the majority of follicles are lost in atretic processes. Together with ovarian reserve decline, ageing takes place, affecting especially some areas of the brain. This combination of events (i.e. hypoestrogenism and abnormal neurotransmitters/neuromodulators synthesis due to ageing) could explain the occurrence of many climacteric symptoms, such as hot flashes, insomnia, mood disorders, memory and/or cognitive disorders other than the elevation of LH and FSH. All the neurotransmitter systems undergo to a progressive decline during life, and in particular the cholinergic, serotonergic and dopaminergic systems. That produce not only a decrease in the cognitive activities but also a disruption of the hypothalamus-pituitary-gonad axis due to the influence of the neurotransmitters on the activity of the neurones producing GnRh.

In conclusion menopause occurs together with ageing thus inducing a perfect combination of symptoms and diseases that are typical of the menopausal transition and of the postmenopausal period.

Key words: *aging; ovarian reserve; brain; FSH; neurotransmitters; perimenopause*

RIASSUNTO

E' indubbio che la menopausa prenda inizio con specifiche modificazioni della funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio ma va tenuto conto che questo evento è assolutamente una combinazione di due condizioni: la prima è il biologico esaurimento della riserva di ovociti nell'ovaio (con progressiva comparsa di ipoestrogenismo), la seconda è il progressivo invecchiamento funzionale di tutti gli organi, in particolare del sistema nervoso centrale. La combinazione di questi eventi porta alla comparsa dei tanti sintomi del periodo del climaterio che spesso si continuano anche negli anni successivi e che sono responsabili dei classici disturbi del tono dell'umore (ansia o depressione), della memoria, delle vampate, dell'insonnia. Tutto questo accade in parallelo alla elevazione delle gonadotropine LH ed FSH e all'ipoestrogenismo. In conclusione la menopausa e le modificazioni che prende luogo per la combinazione di due eventi quali l'esaurimento della riserva ovarica e il lento e progressivo evolvere dell'invecchiamento, in specie quello del sistema nervoso centrale.

Parole chiave: *invecchiamento; riserva ovarica; cervello; FSH; neurotrasmettitori; perimenopausa*

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni ha suscitato grande interesse lo studio dei meccanismi dell'invecchiamento, e in particolar modo le modifiche che incorrono nei principali organi e apparati nel corso della vita, e tra questi il sistema neuroendocrino.

Dalla nascita e per tutta la durata dell'età evolutiva i vari assi ormonali vanno incontro a una progressiva maturazione che raggiunge il suo acme nell'età fertile, si pensi ad esempio all'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico e ai mutamenti a cui va incontro fin dalla pubertà che, in poco tempo, portano all'attivazione della gameto-genesi. Mentre per l'uomo il meccanismo della spermatogenesi non subisce sostanziali modificazioni nel

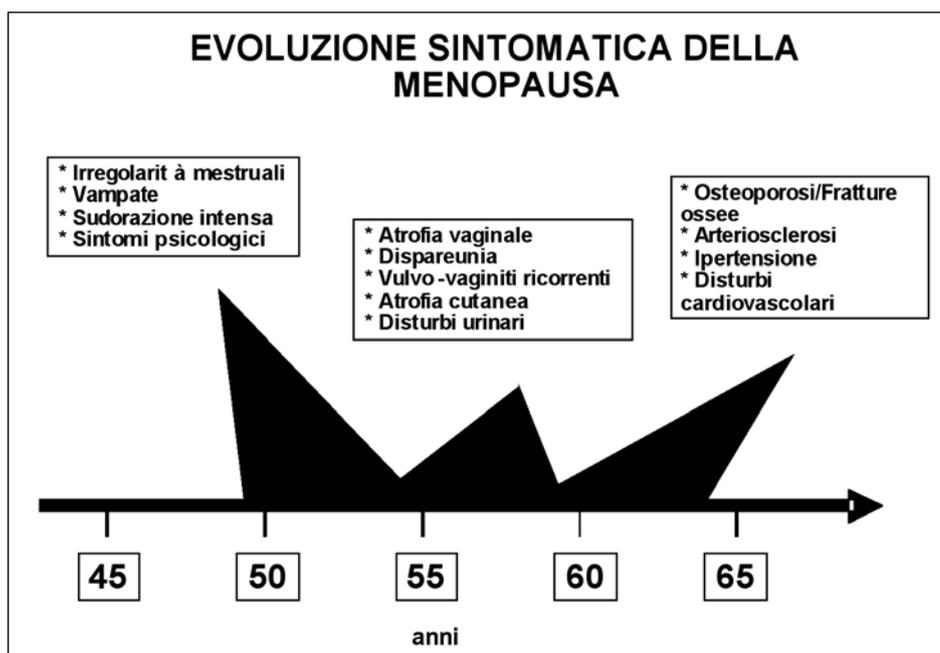
corso della vita, nella donna verso i 48-55 anni l'attività ovarica cessa per esaurimento del patrimonio ovarico (cioè dei follicoli ovarici). Quindi la menopausa che ne consegue, o ancora meglio il corteo dei sintomi tipici del climaterio, sono il segno di un "invecchiamento riproduttivo"(1,2).

In senso stretto il termine "menopausa" indica un momento preciso: l'ultima mestruazione (dato che viene rilevato sempre retrospettivamente), evento che segna la fine del periodo fertile della donna. L'età della menopausa è geneticamente prefissata, in media si colloca tra i 48 e i 55 anni; è più precoce nelle fumatrici (circa 1,5 anni prima) (3), nelle portatrici di anomalie cromosomiche (es. mosaici turneriani) ed in coloro che vivono

ad elevate altitudini, mentre il sovrappeso e secondo alcuni studi l'alto livello socioeconomico ne determinano un'insorgenza tardiva. L'uso di contraccettivi o l'epoca del menarca non modificano il momento di insorgenza della menopausa.

Con il termine climaterio viene indicato un periodo di circa 10-15 anni che precede (premenopausa) e segue (postmenopausa) l'ultima mestruazione; il climaterio è un periodo della vita della donna in cui si verificano le maggiori modificazioni endocrine e metaboliche in senso lato. Il periodo (di durata assai variabile da alcuni mesi fino a 2-5 anni) che immediatamente precede la menopausa viene definito perimenopausa o premenopausa, in cui si verifica una progressiva riduzione del numero dei follicoli ovarici fino al loro esaurimento e quindi alla cessazione dell'attività gonadica femminile.

Fig 1. I sintomi ed i cambiamenti legati alla perimenopausa/menopausa seguono una progressione "logica" in quanto sono dipendenti dal tempo di esposizione all'ipoestrogenismo subito dall'organo interessato. Più il tessuto o organo è sensibile al basso livello di estrogeni, prima si rendono sintomatici i disturbi di tale tessuto o organo.



L'invecchiamento riproduttivo è sintomo di un progressivo deterioramento dell'asse ipotalamo ipofisi ovaio, che può partire dall'ovaio a causa del progressivo depauperamento della riserva follicolare oppure può essere il sintomo di una deregolazione a livello centrale, o in certi casi si hanno entrambe le cause, ossia quella ovarica e quella centrale, che contribuiscono alla disfunzione dell'asse riproduttivo e all'inizio del quadro menopausale.

Veldhuis et al (4) hanno ipotizzato che l'invecchiamento comporti una alterazione della funzione dei principali centri di controllo e/o dei meccanismi di interconnessione fra gli stessi. Le ghiandole normalmente rispondono agli stimoli (feedforward e feedback) dopo un certo periodo di latenza dovuto ai normali fenomeni di diluizione all'interno del torrente circolatorio, di diffusione molecolare, e per gran parte la latenza deriva anche dal complesso meccanismo d'azione attivato dagli ormoni una volta che si sono legati ai loro recettori innescando i meccanismi di trasduzione del segnale ormonale a livello intracellulare. Se questo ritardo esiste in condizioni normali è ragionevole pensare che possa essere ulteriormente ampliato nell'anziano, per via dell'invecchiamento fisiologico delle cellule, per il numero ridotto di recettori e/o per un apparato sinte-

tico meno efficiente. Risulta intuibile che questo fenomeno di "latenza" delle risposte contribuisca man mano a rendere disordinata e ridotta la liberazione delle molecole effettrici, determinando un cambiamento dei livelli ormonali e una alterazione dei meccanismi regolatori (feedback e feedforward). L'attività ghiandolare si mescola alla attività secretiva di fondo, ovvero quella attività secretoria disordinata e randomizzata che appartiene alle cellule endocrine e che rientra nel concetto di "entropia", che per altro aumenta nell'anziano.

Con l'invecchiamento si realizzano numerosi cambiamenti, complessi ed embricati tra di loro, che sono l'innescò di buona parte del dissesto funzionale generalizzato e che nella donna si accompagnano poi al graduale cessare della funzione ovarica e all'ipoestrogenismo che ne consegue. L'abbinamento del fallimento funzionale ovarico con l'invecchiamento, in particolare del Sistema Nervoso Centrale, ne amplifica i fenomeni e nella donna ne attiva degli altri (4,5).

Invecchiamento riproduttivo e riserva ovarica

La menopausa può essere definita come l'ultimo evento di una serie di modificazioni ormonali che iniziano già durante la vita riproduttiva, tanto è vero che i livelli di gonadotropine mostrano una correlazione con l'età (6). Di fatto col progredire dell'età (e dell'invecchiamento funzionale dell'ovaio) i livelli di gonadotropine, in specie di FSH, vanno lentamente aumentando e sono indice di una progressiva evoluzione dell'ovaio verso l'esaurimento dei follicoli.

Con l'esordio dell'amenorrea della menopausa i livelli di gonadotropine saranno ben più elevati che negli esami precedenti (FSH > 40-60 mUI/ml, LH > 30-50 mUI/ml). La deplezione della riserva follicolare e la riduzione della fertilità ad essa correlata sono ipotizzate come cause principali dell'insorgenza della menopausa. La popolazione finale follicolare di una donna adulta si crea durante l'embriogenesi, durante la quale le

cellule primordiali vanno incontro a numerose divisioni meiotiche e alla formazione dei futuri oociti (7). Le cellule entrano nella profase meiotica e rimangono allo stadio di preoociti sino alla pubertà, momento in cui vengono esposti all'azione delle gonadotropine. Durante il periodo che precede la pubertà lo sviluppo di cellule della granulosa gonadotropin-sensibili porta alla crescita degli oociti. A seconda della specie, poi, alcuni follicoli preantrali vengono reclutati per l'ovulazione e uno o più follicoli antrali vengono selezionati per l'ovulazione. A questo punto gli ovociti selezionati attendono il segnale di provenienza ipofisaria che permette il completamento della loro maturazione. Le cellule follicolari degli ovociti reclutati vanno incontro a una serie di modificazioni funzionali che portano alla produzione di progesterone e preparano l'endometrio.

La riserva ovarica viene stabilita verosimilmente alla nascita della donna. Tale riserva va incontro a un progressivo depauperamento con l'avanzare dell'età della donna, e la maggior parte dei follicoli vengono persi in quanto ad ogni ciclo vanno incontro ad atresia (8-10).

Negli ultimi anni è oggetto di studio il ruolo dell'Inibina nell'invecchiamento riproduttivo, nell'insorgenza della menopausa e nell'aumento delle concentrazioni plasmatiche di FSH. Il progressivo aumento di FSH

con l'età è evidente in tutte le fasi del ciclo, anche se questo incremento è ovviamente più importante durante la fase follicolare, ed è chiaro ormai che questo si lega al progressivo decremento delle concentrazioni di Inibina con il passare degli anni ed alla ridotta quantità di estradiolo prodotta.

Ebbiary et al hanno evidenziato il progressivo incremento dei valori plasmatici di FSH con l'età (11). L'incremento di FSH precede di circa 10 anni l'incremento di LH. Donne di 40 anni hanno valori di FSH notevolmente maggiori rispetto a donne più giovani nonostante presentino ancora cicli mestruali. Questa correlazione dei valori di FSH con il tempo è importante in quanto può essere utilizzata per stimare la riserva ovarica di una donna e la probabilità di risposta ai cicli di induzione in campo della procreazione medicalmente assistita.

Poiché la secrezione gonadotropinica da parte dell'ipofisi è sotto il controllo dell'ovaio attraverso meccanismi di feedback negativo, esaurendosi con gli anni il patrimonio oocitario si riduce la steroidogenesi ovarica (in particolare l'estradiolo) e quindi le gonadotropine aumentano progressivamente per un meccanismo di ridotto feed-back negativo. Non è del tutto chiaro per quale ragione l'incremento di FSH preceda di così tanti anni l'incremento di LH, certo è che l'Inibina ha un ruolo chiave.

Infatti l'Inibina è uno dei fattori ovarici in grado di inibire selettivamente la secrezione di FSH. L'Inibina è una glicoproteina prodotta dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici, in grado sia di inibire direttamente la secrezione ipofisaria di FSH sia di modularne l'azione a livello locale intraovarico. Nel corso del normale ciclo mestruale è stato dimostrato un progressivo aumento dei valori di Inibina parallelamente all'incremento dell'estradiolo nella fase follicolare tardiva, e dopo l'ovulazione l'Inibina continua ad aumentare in parallelo all'incremento dei valori plasmatici di progesterone, raggiungendo un picco in corrispondenza della fase medio-luteale. I livelli di Inibina così pure come le concentrazioni degli altri steroidi gonadici si abbassano in prossimità della mestruazione, e tutto

ciò si associa al progressivo aumento di FSH che a sua volta dà il via ad un nuovo ciclo di maturazione follicolare.

Nella fase perimenopausale il progressivo depauperamento dei follicoli ovarici si associa a un calo della produzione di Inibina, segno di un deficit di maturazione follicolare, e conseguentemente ad un incremento di FSH. L'innalzamento di FSH inizialmente riesce a tamponare sia la ridotta responsività sia la diminuita capacità secretiva dell'ovaio, garantendo in tal modo la persistenza di cicli mestruali relativamente regolari ma non sempre ovulatori. In seguito all'ulteriore depauperamento del patrimonio follicolare un ulteriore incremento dei valori plasmatici di FSH circolante non è più sufficiente a garantire l'attività ovarica. Quindi i cicli mestruali si fanno irregolari, spesso anovulatori, o con fase luteinica inadeguata, si viene a creare una situazione di iperestrogenismo relativo che a sua volta predispone allo sviluppo di sanguinamenti uterini anomali, fino anche ad essere causa di quadri di iperplasia endometriale.

I vari studi confermano l'esistenza di una correlazione inversa fra i valori di inibina B ed FSH come pure hanno dimostrato che il calo di Inibina B, Inibina A e del progesterone precede il calo estrogenico menopausale. Il calo dell'Inibina B sembra essere il più precoce evento ormonale che anticipa la crescita dei valori di FSH e l'inizio del periodo climaterico. Tutte queste osservazioni rafforzano l'ipotesi che il ridotto numero di follicoli e il conseguente calo dell'Inibina B sono responsabili della crescita isolata della gonadotropina FSH in epoca premenopausale (12-14).

Invecchiamento riproduttivo e Sistema Nervoso Centrale

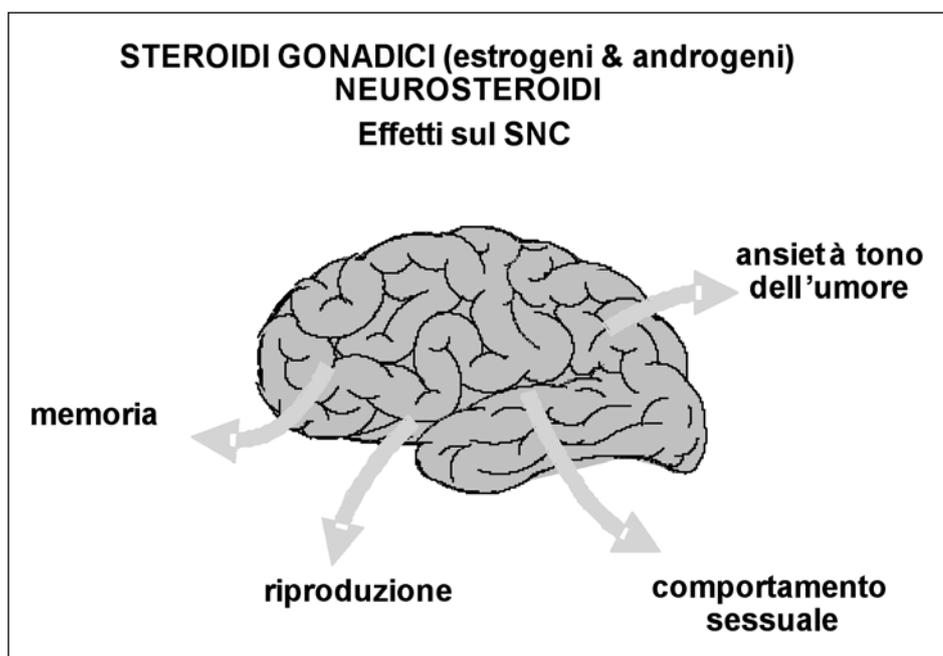
In tutti i primati, e quindi anche nella specie umana, con l'invecchiamento diminuiscono di numero i neuroni cerebrali. In alcune aree del cervello la perdita è ridotta o modesta (nei nuclei del tronco cerebrale, in quello sopraottico e in quello paraventricolare) ma in altre può arrivare fino al

60 %, come accade a livello dell'ippocampo, dell'area del cingolo, dell'amigdala. Questo spiega la ridotta capacità mnemonica e di apprendimento tipica dell'anziano. Dai 20 ai 90 anni il peso dell'encefalo diminuisce del 10 % con una relativa riduzione dell'efficienza, purché il trofismo del sistema nervoso sia mantenuto sano e senza danni da cause vascolari. Col procedere dell'età si hanno anche alterazioni dei sistemi neurotrasmettitoriali, per esempio si riduce l'attività acetiltransferasica, si riduce il numero dei recettori colinergici come anche i livelli dell'acido gamma aminobutirrico (GABA), della serotonina e delle catecolamine (15).

I dati ormai consolidati della letteratura confermano la presenza di una fitta rete di interazioni tra gli steroidi gonadici ed i molti neuropeptidi e neurotrasmettitori che sono alla base della regolazione e modulazione di tutti i sintomi neurovegetativi e psicologici. Per questo discuteremo il ruolo dei vari sistemi neurotrasmettitoriali e dei sintomi loro correlati

L'aumento dei livelli di LH e dell'ampiezza dei suoi picchi, tipici nella donna in perimenopausa/menopausa, trovano una spiegazione nell'aumento del tono noradrenergico, dato che la norepinefrina ha un effetto sti-

Fig 2. Il SNC subisce gli effetti della riduzione dei livelli degli steroidi sessuali. Cambiano molti modi di "agire" del SNC nei confronti di stimoli esterni e stressors. Molte delle alterazioni di risposta del SNC dipendono dalla ridotta produzione di neurosteroidi nel cervello, e questo è direttamente dipendente dalla ridotta quantità di estrogeni, androgeni e DHEA presenti nel sangue circolante.



molatorio sul rilascio del GnRH ipotalamico grazie alla mediazione dei recettori α -adrenergici. Infatti il loro stimolo con la clonidina, un agonista dei recettori 2- adrenergici, fa classicamente aumentare i livelli di LH nelle donne ovariectomizzate (16,17).

L'avanzare dell'età e la mancanza del tono estrogenico sono anche causa di una alterazione del tono dopaminergico a livello ipotalamico. Oltre che regolare la secrezione della prolattina (PRL), la dopamina svolge importanti effetti di modulazione a livello centrale su varie strutture ed in particolare proprio nell'ipotalamo. La dopamina esercita un tono di tipo inibitorio sul rilascio del GnRH e questo tono viene meno con la menopausa spontanea o l'ovariectomia e si ripristina in modo adeguato con la terapia ormonale sostitutiva (18). La somministrazione di farmaci dopamino-agonisti, come la bromocriptina o la cabergolina, riduce il rilascio dell'LH, probabilmente per un effetto diretto sui neuroni GnRH-secernenti, con la conseguente alterazione del rilascio episodico dell'LH. Anche la serotonina (5-HT), tramite un effetto diretto di stimolazione dei peptidi oppioidi endogeni (EOP), interviene nel controllo del GnRH, e quindi delle gonadotropine. L'insorgenza del climaterio vede una riduzione del tono serotoninergico con conseguente decadimento dei controlli centrali svolti da questo neurotrasmettitore. Infatti la somministrazione di un precursore della serotonina, il 5-idrossitriptofano (5-HTTP), determina una riduzione della secrezione degli oppioidi, in specie della β -endorfina, che risulta più marcata nelle donne in menopausa rispetto alle donne in età fertile (19). Questo suggerisce che il tono serotoninergico agisce modulando gli EOP prodotti a livello centrale (20).

Il sistema oppioide è anche intimamente connesso a quello dopaminergico, dato che la somministrazione di bromocriptina alle pazienti in menopausa fa ricomparire la risposta dell'LH al naloxone (16), ma è assai più interessante ricordare che la somministrazione di questo antagonista

oppioidi, in assenza di terapia sostitutiva ormonale, riduce sia il numero che l'intensità delle vampate di calore senza modificare i livelli dell'LH (21,22). Questo coinvolgimento degli EOP nella regolazione del controllo della temperatura corporea e del tono vascolare è importante in quanto dimostra quanto gli EOP siano coinvolti in modulazioni non solo endocrine, come quella dell'asse GnRH-gonadotropine, ma anche puramente neurotrasmettitoriali. Infatti nel coniglio la iniezione di β -EP nell'area preottica dell'ipotalamo determina innalzamento della temperatura corporea ed induce delle alterazioni comportamentali dell'animale assimilabili a quelle osservabili nelle donne in menopausa durante la vampata (23,24).

Quanto detto dimostra come siano integrate certe funzioni ipotalamiche e come queste siano modulabili in modo variabile a seconda delle situazioni fisiopatologiche. Va inoltre ricordato che gli effetti della modulazione degli oppioidi giocano un ruolo chiave anche ben prima della pre/postmenopausa dato che nel corso del ciclo mestruale, in base ai livelli degli ormoni steroidei, gli oppioidi modulano in modo diverso le funzioni ipotalamiche.

In conclusione la cessazione dell'attività riproduttiva della donna è il risultato di un progressivo "invecchiamento" del sistema riproduttivo in genere, a partire dai componenti dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio (in particolare l'ovaio) e dei sistemi endocrini e nervosi che con esso interagiscono modulandone il funzionamento e consentendo alla donna fertile di adattare la propria capacità riproduttiva all'ambiente circostante. Conoscere questo evento deve stimolare a prevenire e curare gli eventi fisiopatologici che insorgono e accompagnano le donne dalla perimenopausa alla postmenopausa.

BIBLIOGRAFIA

1. Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility* Ed Williams and Wilkins Co. 1997.
2. Candiani G, Danesino V, Gastaldi A. *La clinica ostetrica e ginecologica*. Ed Masson, Milano. 1996.
3. Mc Kinlay SM, Bigano NL, Mc Kinlay JB. *Smoking and age at menopause*. *Ann Inter Med* 1985; 103:350-7.
4. Veldhuis JD. *Nature of altered pulsatile hormone release and neuroendocrine network signalling in human ageing: clinical studies of somatotropic, gonadotropic, corticotropic and insulin axes*. In: *Mechanism and biological significance of pulsatile hormone secretion*. Wiley, Chichester. Novartis Foundation Symposium 2000; 227:163-189.
5. Veldhuis JD, Carlson ML, Johnson ML. *The pituitary gland secretes in burst: appraising the nature of glandular secretory impulses by simultaneous deconvolution of plasma hormone concentrations*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:349-498.
6. Metcalf MG, Livesey JH. *Gonadotropin excretion in fertile women: effect of age and the onset of the menopausal transition*. *J Endocrinol* 1985; 105:357-62.
7. Wassarman PM, Albertini DF. *The mammalian ovum*. In: Knoble E, Neill J, Eds. *The Physiology of Reproduction*, 2nd Ed. New York, Raven Press; 1994, pp79-122.
8. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. *Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause*. *Hum Reprod* 1992; 7:1342-6.
9. Leidy LE, Godfrey LR, Sutherland MR. *Is follicular atresia biphasic?* *Fertil Steril* 1998; 70:851-9.
10. Johnson AL. *Intracellular mechanisms regulating cell survival in ovarian follicles*. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:185-201.
11. Ebbiary NA, Lenton A, Salt C, et al. *The significance of elevated basal follicle stimulating hormone in regularly menstruating infertile women*. *Hum Reprod* 1994; 9: 245-52.
12. Munro SE, Jaffe RB, Medgley AR. *Regulation of human gonadotrophins, changes in serum gonadotrophins in menstruating women in response to oophorectomy*. *J Endocrinol Metab* 1972; 34: 420-4.
13. Sherman BM, Korenman SG. *Hormonal characteristics of the human menstrual cycle throughout reproductive life*. *J Clin Invest* 1975; 55:699-706.
14. Burger HG. *Inhibin*. *Reprod Med Rev* 1992; 1-20.
15. *Manuale Merk di geriatria*. Sharp & Dohme Italia S.p.A
16. Adler BA, Johnson MD, Lynch CO, et al. *Evidence that norepinephrine and epinephrine systems mediate the stimulatory effects of ovarian hormones on luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone*. *Endocrinology* 1983; 113:1431-8.
17. Nappi C, Petraglia F, de Chiara BM, et al. *The effect of various drugs with neuroendocrine activities and transdermal estradiol on plasma gonadotrophin concentrations after ovariectomy in reproductive-aged women*. *Acta Obstet Gynec Scand* 1991; 70:435-9.
18. Fuxe K, Lofstrom A, Eneroth P, et al. *Involvement of central catecholamines in the feedback actions of the 17 beta-estradiol benzoate on luteinizing hormone secretion in the ovariectomized female rat*. *Psychoneuroendocrinology* 1977; 2:203-5.
19. Petraglia F, Brillì G, Mercuri N, et al. *Ridotta attività dei recettori serotoninergici ed adrenergici in postmenopausa*. In: "Il climaterio femminile: esperienze italiane di un decennio. Bottiglioni F, de Aloysio D (eds.), Monduzzi Publ. 1988: 117-20.
20. Genazzani AR, Salvestroni C, Spinetti A, et al. *Estrogens and neurotransmitters*. In *The Management of The Menopause*, Studd J Ed., The Parthenon Publ., London, UK, 1998, pp 169-75.
21. Genazzani AR, Spinetti A, Gallo R, et al. *Menopause and the central nervous system: intervention options*. *Maturitas*; 1999 31:103-10.
22. Melis GB, Paoletti AM, Gambacciani M, et al. *Evidence that estrogens inhibit LH secretion through opioids in postmenopausal women using naloxone*. *Neuroendocrinology* 1984; 39: 60-4.
23. Casper FR, Alapin-Rubillovitz S. *Progestins increase endogenous opioid peptide activity in postmenopausal women*. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60:34-7.
24. Shoupe D, Montz JF, Lobo AR. *The effects of estrogens and progestins on endogenous opioid activity in oophorectomized women*. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60:178-81.