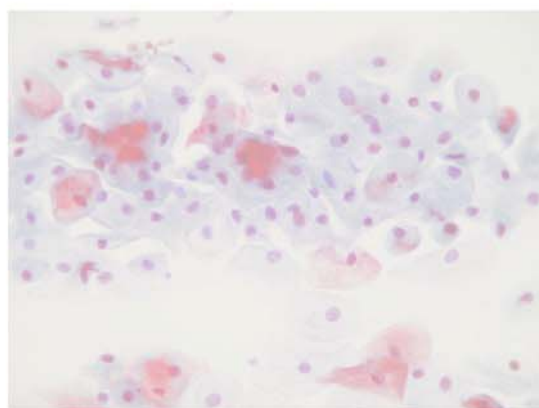


Armando Delmanto

Efeito do Raloxifeno no Epitélio Vaginal de Mulheres na Pós-Menopausa

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós - Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e
Mastologia, Área de Concentração em Ginecologia,
da Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp,
para obtenção do título de Mestre.**

**Orientador: Prof. Dr. Jorge Nahás Neto
Co-orientadora: Prof.a Dra. Eliana Aguiar Petri Nahás**



**Botucatu
2006**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Delmanto, Armando.

Efeito do raloxifeno no epitélio vaginal de mulheres na pós-menopausa /
Armando Delmanto. – 2006.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Botucatu, Universidade
Estadual Paulista, 2006.

Orientador: Jorge Nahás Neto

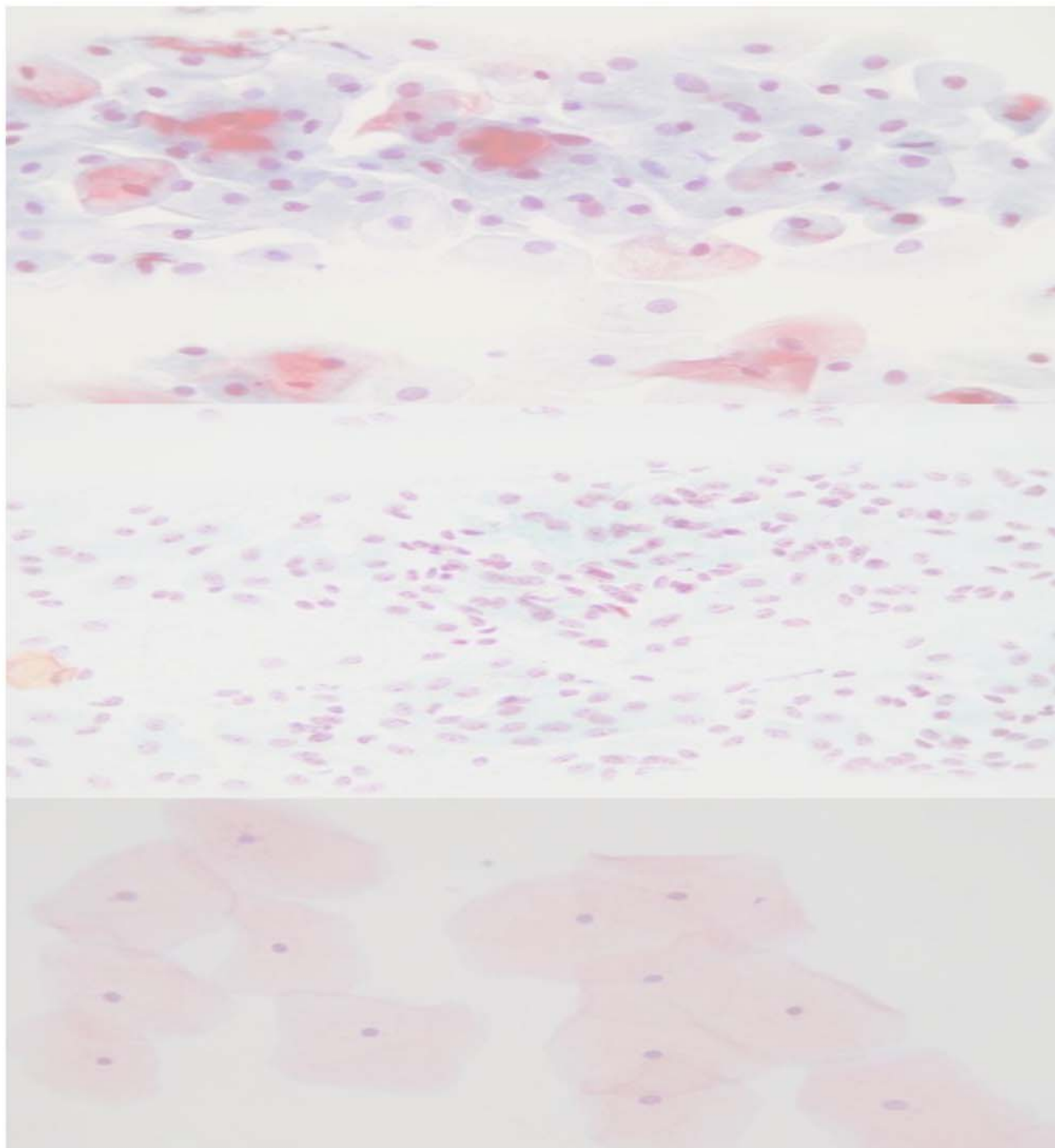
Co-orientadora: Eliana Aguiar Petri Nahás

Assunto CAPES: 40101150

1. Vagina - Citologia 2. Menopausa - Tratamento 3. Ginecologia

618.15

Palavras-chave: Citologia vaginal; Menopausa; Raloxifeno



Dedicatórias

À Deus, por se fazer presente em todos os momentos de minha vida, propiciando-me saúde para desfrutar das coisas boas e perseverança para enfrentar as dificuldades.

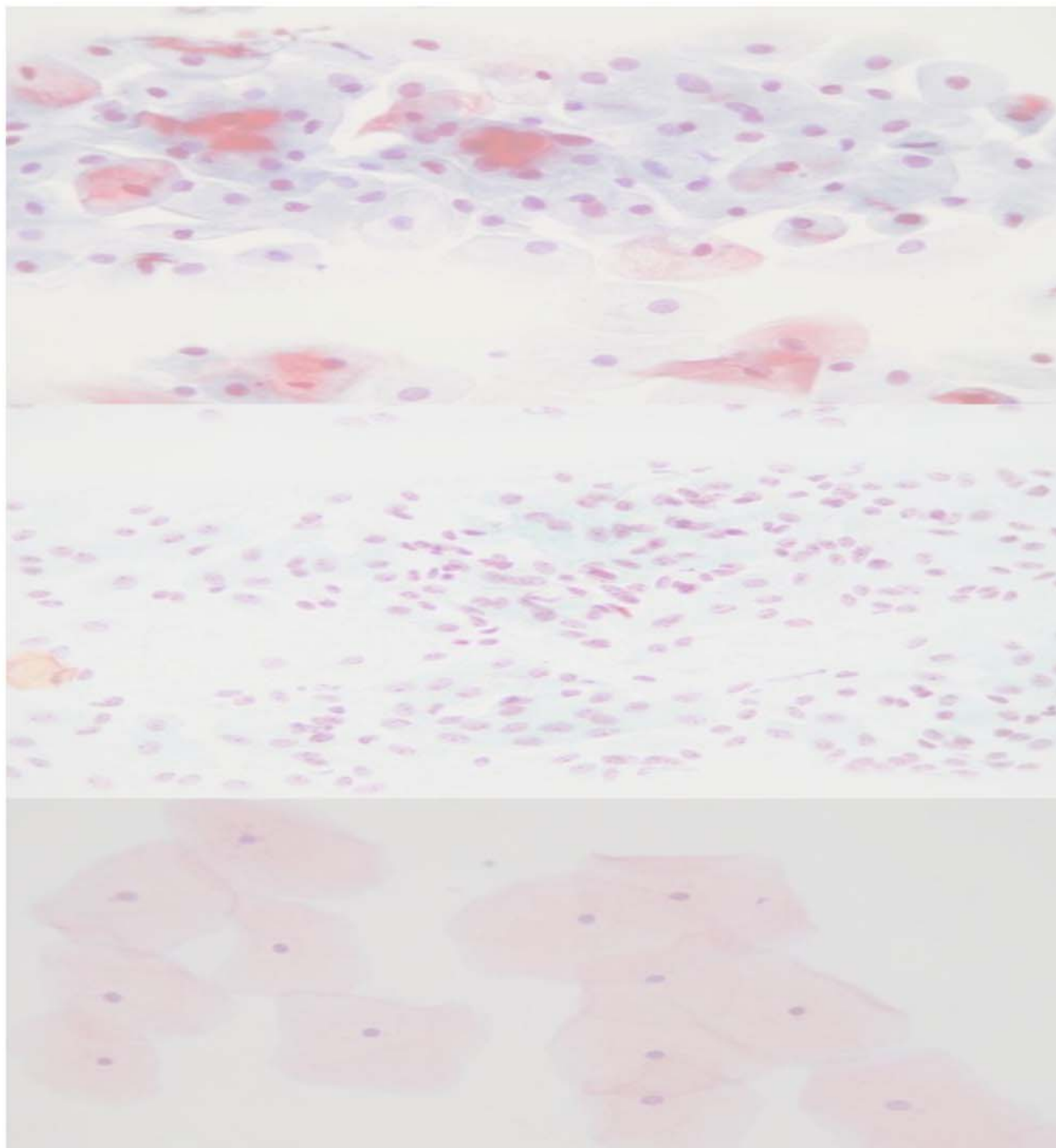
Aos meus pais Armando e Beth e meu irmão Marcelo, pelo alicerce familiar, amor, respeito, confiança e incentivo para nunca desistirmos de lutar e acreditar em nossos sonhos, sempre calcados nos princípios da ética e da moral.

À minha esposa Lúcia, meu amor, pelo apoio e companheirismo.

À minha pequena Laura, que tanta felicidade trouxe mostrando-me como é gostoso ser pai.

Aquele que está chegando, Armando Delmanto Neto, já tão amado antes de nascer...

Ao amigo e professor Dr. Jorge, pelo incentivo, amizade e incontestável dedicação na confecção desse trabalho. A construção de uma família linda, o sucesso profissional e o respeito social o fazem um vencedor.

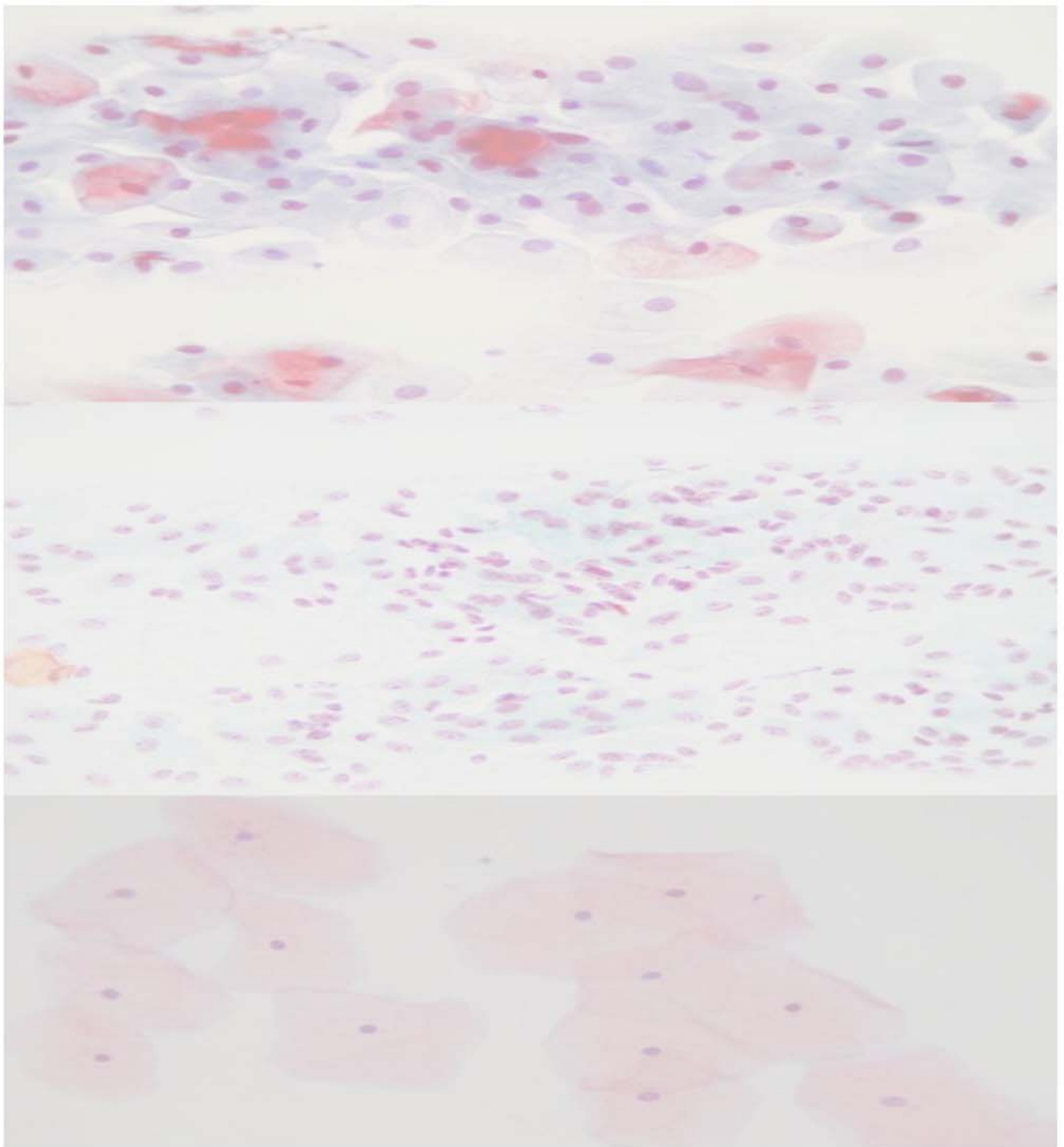


Agradecimentos Especiais

Ao mestre Dr. Paulo Traiman, pelos constantes ensinamentos e pela oportunidade de poder trabalhar como seu discípulo, o que é muito gratificante.

À professora Dra. Eliana, por toda a ajuda e transmissão de seus conhecimentos.

À minha nova família Seu Firmino, Dona Máxima, Cláudia, Renata e Paulo, por tantas coisas compartilharem ao meu lado e pelo apoio e ajuda nos momentos mais difíceis.



Agradecimientos

À professora Dra. Maria Luiza Cotrim Sartor de Oliveira, por todo auxílio, pela prestatividade e pela transmissão de seus conhecimentos em citologia, bem como leitura das lâminas.

Às pacientes desse estudo, que de maneira carinhosa nele se envolveram.

Aos professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu, pelos ensinamentos.

Às colegas de trabalho, Ângela e Cristiane, pela divisão das tarefas e convívio constante.

Ao professor Dr. Gilberto Uemura, irmão de todas as horas, pela amizade.

À amiga Heloísa Maria De Luca Véspoli, pela atenção nos momentos necessários.

À Dra. Weide Barbosa Pereira e às funcionárias do setor de Diagnóstico por Imagem, pela interpretação e agendamento das densitometrias ósseas.

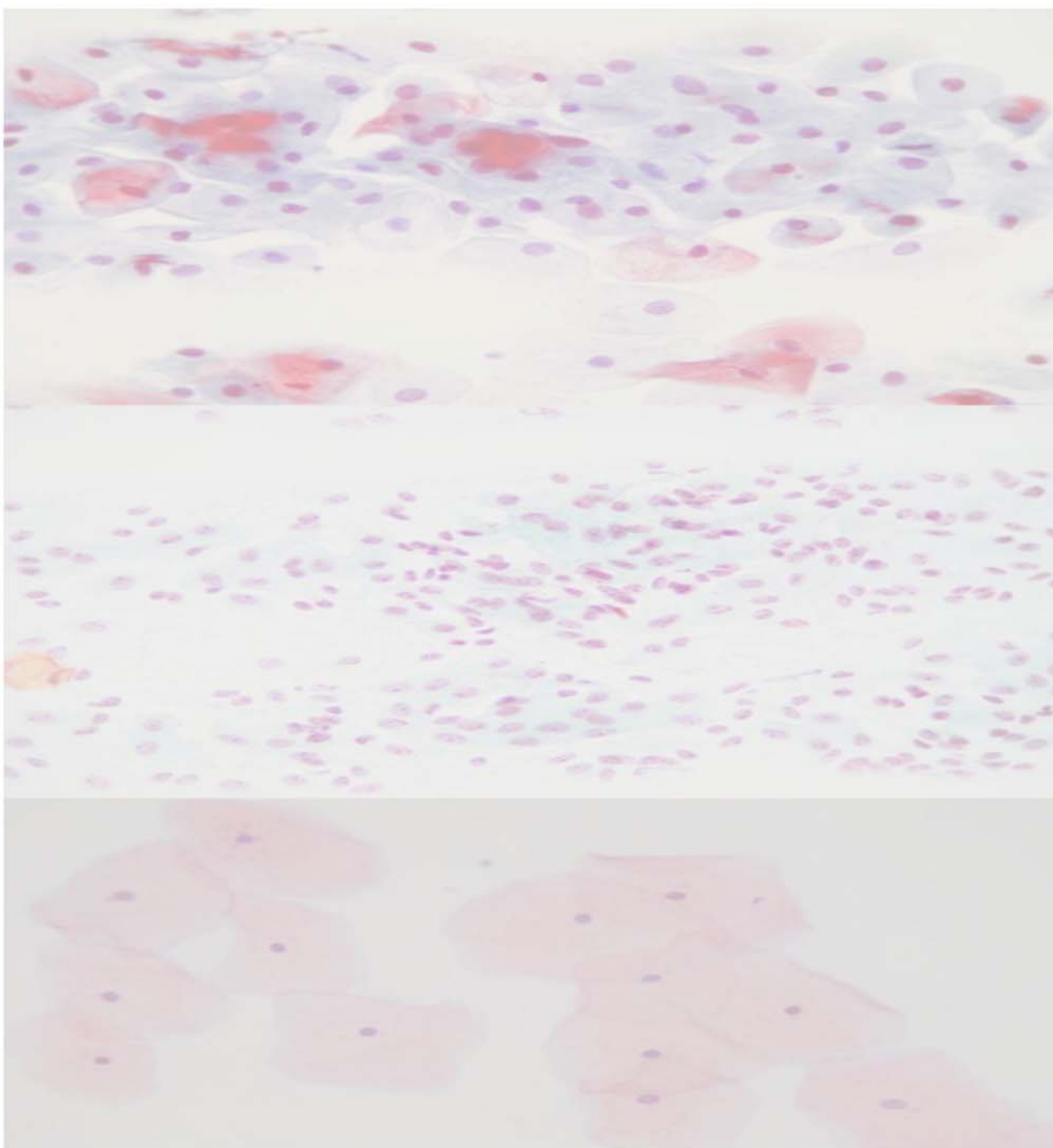
Ao consultor estatístico Hélio Rubens de Carvalho Nunes, pela realização das análises estatísticas deste trabalho e pela sua atenção.

Às funcionárias do Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela atenção nas minhas solicitações.

Às funcionárias da secretaria do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, por toda colaboração necessária.

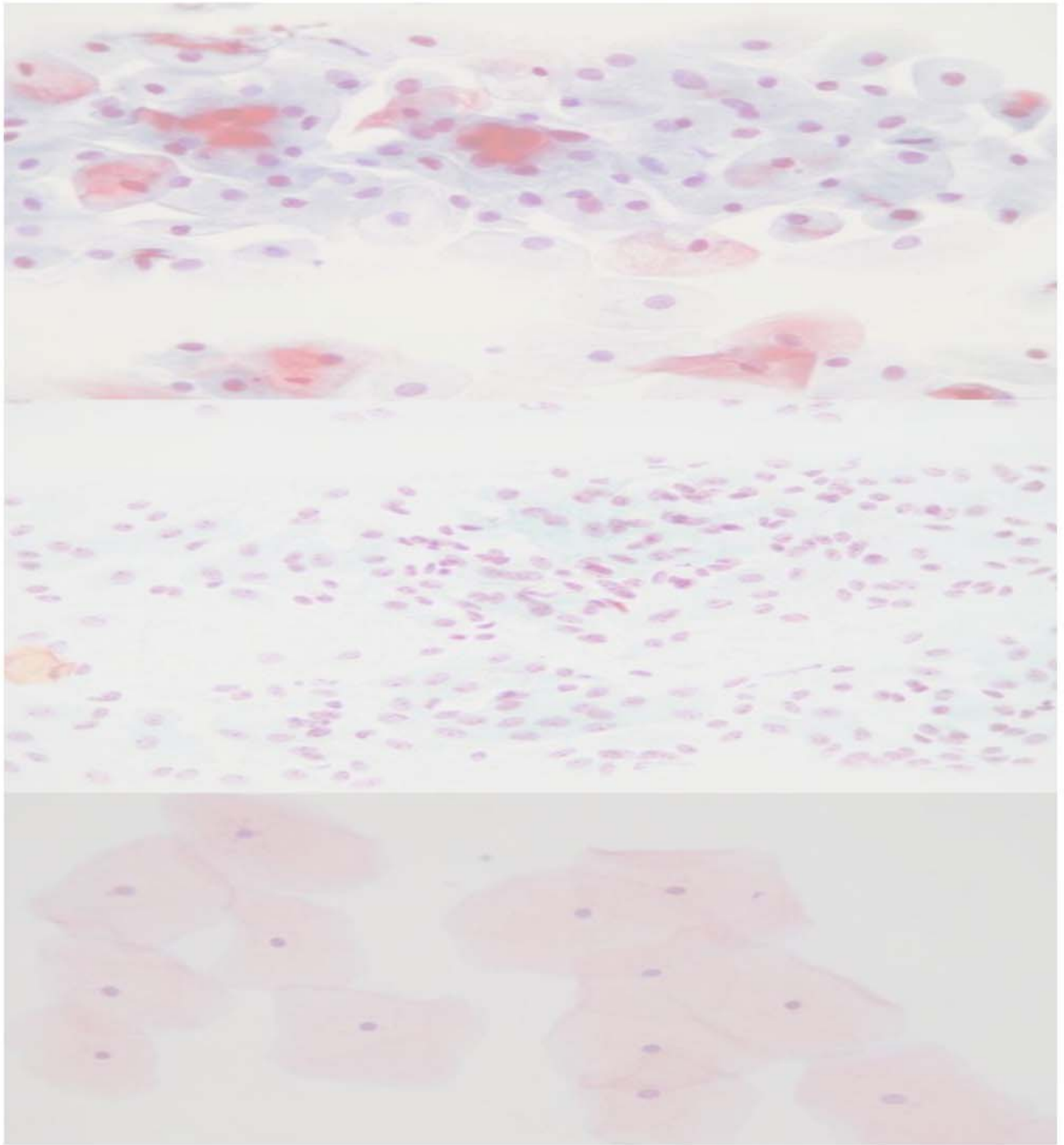
Aos funcionários da seção de Pós-Graduação, pelas informações e atenção nos momentos necessários.

Às funcionárias da Biblioteca pela confecção da ficha catalográfica e pela revisão das referências bibliográficas.



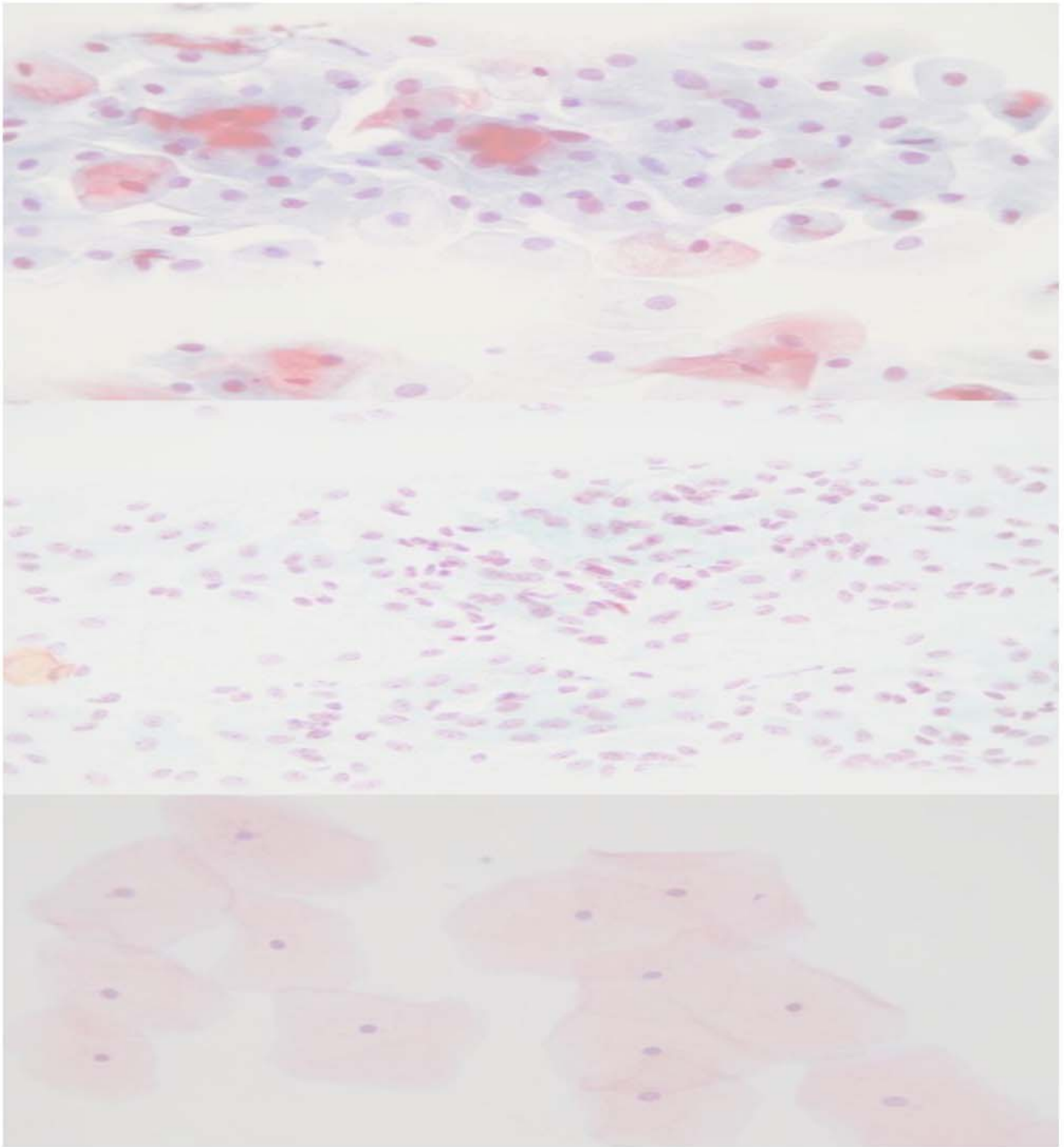
Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS	12
RESUMO	14
ABSTRACT	16
1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	30
2.1 Objetivo Geral	31
2.2 Objetivos Específicos	31
3 PUBLICAÇÃO	32
4 CONCLUSÃO	56
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
6 ANEXOS	64
6.1 Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa	65
6.2 Anexo 2 – Características Clínicas do Grupo Controle	66
6.3 Anexo 3 – Características Clínicas do Grupo Tratado	67



Lista de Abreviaturas

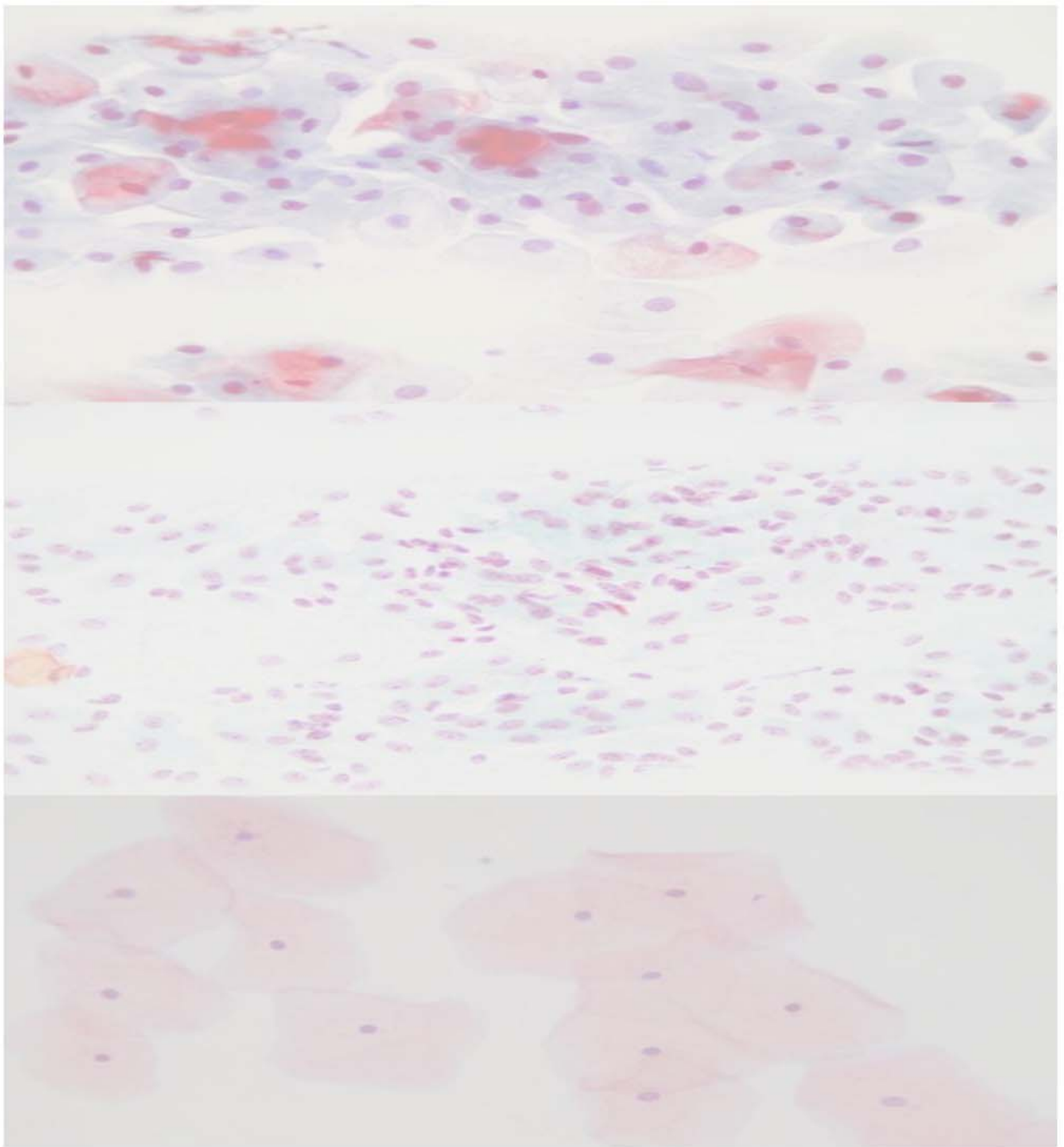
TH	terapia hormonal
M0	momento inicial
M1	momento final
SERM	modulador seletivo de receptor de estrogênio
LDL	low density lipoprotein
IMC	índice de massa corpórea
VM	valor de maturação
FDA	Food and Drug Administration
FSH	hormônio folículo estimulante
EEC	estrogênios equinos conjugados



Resumo

Objetivo: Analisar o efeito do raloxifeno sobre o epitélio vaginal de mulheres na pós-menopausa. **Métodos:** Estudaram-se prospectivamente entre novembro de 2004 a fevereiro de 2006, 80 mulheres na pós-menopausa. Quarenta pacientes receberam 60mg/dia de raloxifeno (GR) e 40 mulheres compuseram o grupo não tratado (grupo controle, GC), pareado por idade e tempo de menopausa. O grupo tratado foi composto por pacientes com osteoporose de coluna lombar e/ou colo do fêmur. Foram excluídos aquelas com sinais e/ou sintomas de infecção do trato genital inferior e usuárias de terapia hormonal (TH) até seis meses prévios ao estudo. Os esfregaços vaginais foram coletados em dois momentos: inicial (M0) e após seis meses de seguimento (M1). Para avaliação do epitélio vaginal foi utilizado o valor de maturação, com a contagem de células superficiais, intermediárias e parabasais. Os esfregaços foram analisados por único citopatologista, sem conhecimento dos dados das pacientes. Para análise estatística empregou-se o teste *t* de *Student*, teste Wilcoxon Mann-Witney e o teste Qui-Quadrado. **Resultados:** Na comparação estatística inicial os grupos foram homogêneos. Comparando os momentos inicial e final, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores medianos de maturação do epitélio vaginal e na porcentagem de células superficiais, intermediárias e parabasais entre os grupos. Não foi constatada correlação linear significativa entre o valor de maturação e a idade, o tempo de menopausa, o uso ou não de TH prévia, tabagismo e o índice de massa corpórea, em ambos os grupos. **Conclusão:** O tratamento com raloxifeno por seis meses não alterou o valor de maturação do epitélio vaginal em mulheres na pós-menopausa.

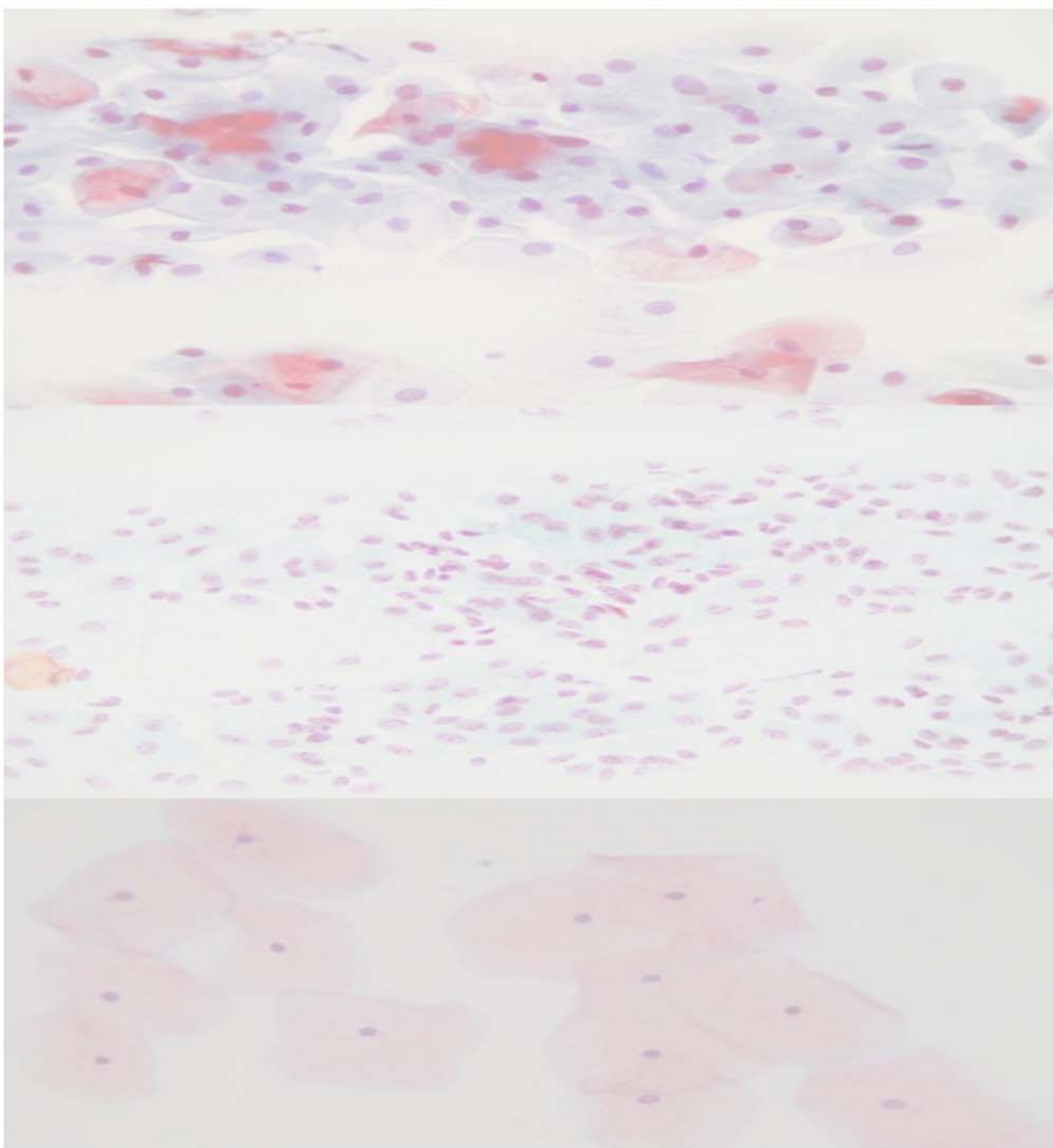
Palavras – chave: Citologia vaginal; Menopausa; Raloxifeno



Abstract

Objective: To analyze the effect of raloxifene on the vaginal epithelium of postmenopausal women. **Methods:** Eighty postmenopausal women were studied prospectively between November of 2004 and February of 2006. Forty patients received 60mg/day of raloxifene (GR), and 40 women comprised the non-treated group (control group, CG), paired by age and time of menopause. The treated group was composed of patients with osteoporosis of the lumbar column and / or femur. Those with signs and / or symptoms of infection of the inferior genital tract and users of hormonal therapies (HT) up to six months prior to the study were excluded. Vaginal smears were collected at two moments: initial (M0) and after six months of follow-up (M1). To evaluate the vaginal epithelium, the maturation value was determined, along with counts of superficial, intermediate and parabasal cells. Smears were analyzed by only one cytopathologist, without knowledge of patient data. For statistical analysis *Student's t* test, Wilcoxon Mann-Witney test and Chi-Squared test were employed. **Results:** In the initial statistical comparison the groups were homogeneous. Comparing the initial and final moments, no statistically significant differences were observed in median values of vaginal epithelial maturation or in percentage of superficial, intermediate and parabasal cells between the groups. There was no significant linear correlation between value of vaginal epithelial maturation and age, time of menopause, use or not of previous HT, smoking or body-mass index, in both groups. **Conclusion:** Treatment with raloxifene for six months did not alter the maturation value of vaginal epithelium in postmenopausal women.

Key – words: vaginal cytology, menopause, raloxifeno



1 Introdução

A menopausa é considerada um fenômeno essencialmente moderno em seus aspectos fisiológico, clínico e terapêutico. O envelhecimento da população mundial é evento relativamente recente na História da humanidade. No século XVII, 28% das mulheres viviam o suficiente para alcançar a menopausa e somente 5% sobreviviam mais de 75 anos. Atualmente, em muitos países desenvolvidos, 95% das mulheres atingem a menopausa e 50% ultrapassam 75 anos de idade. Aproximadamente 10% da população mundial têm mais de 50 anos. No Brasil, a população de mulheres com 50 anos ou mais, no ano de 2000, foi de 14.508.639, com algumas diferenças de acordo com a região ¹.

Defini-se menopausa como a interrupção das menstruações, resultante do término da atividade folicular ovariana, com diminuição na produção dos esteróides sexuais ². Ocorre em média aos $49,4 \pm 5,5$ anos de idade nas mulheres latino-americanas ³. Diferentemente do menacme, os estrogênios da menopausa são de origem periférica ⁴. A estrona, principal estrogênio da menopausa, é produzida principalmente pela aromatização da androstenediona no tecido adiposo. A maior fonte de androstenediona na menopausa é a glândula supra-renal (80%), embora ocorra pequena produção pelos ovários (20%) ⁵.

O declínio na produção estrogênica interfere negativamente na qualidade de vida, repercutindo sobre o bem estar emocional, físico e social da mulher. A deficiência estrogênica poderá interferir em todos os tecidos alvos. Observa-se que 76% a 80% das mulheres relatam algum sintoma decorrente do déficit estrogênico, entre eles atrofia vaginal, vulvar,

disfunção vesical e uretral. Essas alterações são justificadas pela presença de receptores de estrogênio presentes nos tecidos do assoalho pélvico ⁶. A atrofia resultante do hipoestrogenismo é bem observada no epitélio e nos tecidos pélvicos de sustentação, tornando a mucosa mais delgada e ressecada, resultando em sangramento, dispareunia, disúria, polaciúria e urgência miccional ⁷.

A vagina é recoberta por epitélio escamoso estratificado não ceratizante. O epitélio vaginal possui papilas epiteliais rasas e de pequena significação, não presente na “parte vaginal” da cérvix. A espessura do epitélio escamoso varia com a idade. É fino nas pré-pubes e nas mulheres na pós-menopausa. Durante o menacme é espesso, com variação de acordo com as fases do ciclo menstrual. São quatro as camadas do epitélio escamoso. A mais profunda, conhecida como camada basal, é constituída por única camada de células compactas arredondadas, com núcleos proeminentes, escuros e quase sem citoplasma. Trata-se de uma camada germinativa, com habilidade de reprodução, em que existe mitose celular. A camada seguinte, a parabasal, tem carreiras de células, maiores que as da camada anterior, poliédricas, arredondadas ou ovaladas com núcleos centrais. Pode haver ligações entre as células pelas pontes intercelulares, havendo menor atividade reprodutiva e maior exfoliação. A terceira camada, a intermediária, consiste de várias carreiras de células grandes, poliédricas ou ovais, com citoplasma abundante contendo glicogênio, claro e com núcleo pequeno, escuro e redondo ou oval. A quarta camada, a superficial, consiste de células semelhantes à camada anterior, porém com citoplasma

pouco menor e mais achatado. Os núcleos são centrais e picnóticos. O citoplasma se ceratiniza, possuindo maior habilidade de descamação e sem atividade reprodutora ⁸. (Figura 1).

A avaliação qualitativa das células de descamação do epitélio vaginal, por meio da colpocitologia, informa sobre seu estado hormonal. Pode-se colher amostra do fundo de saco posterior e/ou das paredes vaginais. O epitélio escamoso que reveste o colo uterino responde mais rápido e intensamente às flutuações da atividade hormonal que o epitélio das paredes vaginais laterais. Os métodos de coloração dos esfregaços são os de Papanicolaou e de Shorr ⁸. Entre os esfregaços com atividade estrogênica, tem-se o da fase pré-ovulatória ou folicular, fase ovulatória, fase progestagênica ou com atividade luteínica e o da fase pré-menstrual ⁸. Os efeitos do hipuestrogenismo no trato genitourinário encontram justificativa na embriogênese, pois tanto a vagina como uretra têm origem embriológica comum, a partir do seio urogenital. Assim, ambas respondem à ação dos esteróides sexuais. Avalia-se o grau de atrofia da mucosa vaginal ou uretral, pelo esfregaço celular de seus epitélios. Quanto maior a quantidade de células profundas em relação às superficiais, maior a atrofia ⁹.

O esfregaço atrófico é o padrão encontrado nas meninas pré-puberes, em mulheres na pós-menopausa, no pós-parto tardio e em mulheres submetidas a tratamento radioterápico. É caracterizado por presença de 50% ou mais de células da camada parabasal, poucas células intermediárias e raras superficiais. Os núcleos das células parabasais são

grandes com relativa atividade cromatínica. O muco é copioso e denso e há aumento do número de leucócitos com sinais degenerativos, presença de histiócitos gigantes multinucleados e raros ou ausentes bacilos de Döderlein. (Figura 2). Com relação ao esfregaço hipotrófico ou hipoestrogênico, identifica-se células intermediárias com grandes núcleos, grupamentos densos e a presença das células naviculares. Raras células superficiais e muco estão presentes, com moderada quantidade de leucócitos e praticamente ausência de bacilos de Döderlein (Figura 3). Finalmente, há esfregaços hiperestrogênicos em situações especiais que se caracterizam por apresentarem células eosinófilas, ausência de muco e leucócitos, e presença de bacilos de Döderlein em pequenos e densos grupos ⁸ (Figura 4).

De acordo com os Consensos Europeu e Norte-Americano em 2004/2005, os benefícios estabelecidos relacionados à terapêutica hormonal na menopausa são: alívio da sintomatologia climatérica, melhora da sexualidade, conservação do tegumento, preservação da massa óssea e conservação do trofismo urogenital, levando à melhora da qualidade de vida ^{10,11}. Os estrogênios agem sobre o trofismo da mucosa uretral e vaginal, o tônus e o trofismo muscular, o tecido conjuntivo dos tratos urinário e genital e sobre a vascularização periuretral. A administração de estrogênio é opção segura e eficaz no alívio dos sintomas da atrofia vaginal ¹². O estrogênio também tem ação importante na manutenção do ecossistema vaginal, preservando o predomínio dos lactobacilos em sua flora. Esta é uma importante forma de proteção contra a aquisição de infecções do trato

genito-urinário ¹³. A produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) seria a principal ação de determinadas cepas de lactobacilos, deixando o meio vaginal mais ácido. Essas cepas são capazes também de elaborar “bacteriocinas” que interferem com a aderência bacteriana na célula epitelial vaginal e com a competição por nutrientes, inibindo assim o crescimento exagerado de outros microorganismos comuns no meio vaginal. A presença destes é freqüente, em concentrações menores que 100.000 UFC/g de secreção vaginal. É comum o isolamento de *Gardnerella vaginalis*, difteróides, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp., *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Streptococcus* do grupo B, *Escherichia coli*, *Peptostreptococcus* e *Cândida albicans* ¹⁴.

Inúmeros trabalhos demonstram o papel da terapia estrogênica administrada por via oral e vaginal quanto à melhoria dos sintomas decorrentes da vaginite atrófica como dispareunia, disúria externa e ressecamento vaginal ⁷. Outros trabalhos especificam o papel da terapia hormonal convencional interferindo satisfatoriamente no valor de maturação do epitélio vaginal ^{15,16,17}, no índice de saúde vaginal com melhoria do volume do fluido vaginal, da elasticidade e da diminuição do pH da vagina ¹⁸ e, por fim, estudo demonstrando o aumento da cariopicnose e das células superficiais ¹⁹. A atrofia vaginal, com seus sinais e sintomas deveria receber avaliação rotineira, uma vez que gera efeitos negativos na qualidade de vida da mulher na pós-menopausa. Ainda, a atividade sexual regular deveria ser encorajada, pois mantém a saúde vaginal, como também o uso de terapia

estrogênica vaginal para mulheres com queixa de ressecamento vaginal, dispareunia e infecção urinária de repetição ²⁰.

Os moduladores seletivos dos receptores de estrogênio (SERMs) pertencem a uma classe de drogas que atuam de forma seletiva nos receptores estrogênicos exercendo efeitos agonistas ou antagonistas em diferentes tecidos alvos. Seu mecanismo de ação tecidual específica depende da variação na expressão de receptores estrogênicos alfa e beta em diferentes tecidos, da conformação que o receptor adquire após ligação com o SERM e da disponibilidade local de proteínas co-reguladoras que podem ser ativadoras ou repressoras ²¹. O raloxifeno, uma segunda geração do SERM, é um benzotiofeno cuja forma molecular é C₂₈H₂₇N₀₄S (HCl) e peso molecular de 510,05. É um composto diferente estruturalmente dos trifeniletilenos, que pertencem à família do tamoxifeno e do estradiol. Sua porção inferior liga-se de forma semelhante ao estrogênio e sua cadeia lateral, diferentemente do estrogênio, explicando suas propriedades antagonistas na mama e no útero ²² (Figura 5). Possui atividade agonista no metabolismo ósseo e em vários parâmetros intermediários de eventos cardiovasculares como valores séricos de lipídeos, lipoproteínas e fibrinogênio. Mostra atividade anti-tumoral em células do câncer de mama *in vitro* e previne a carcinogênese mamária em ratas ²³. Por tudo, o raloxifeno mostra perfil de modulador seletivo do receptor estrogênico que poderia ser aplicado na prevenção e/ou tratamento da osteoporose, com potencial benefício na doença cardiovascular e na prevenção do câncer de mama.

O cloridrato de raloxifeno foi aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para prevenção da osteoporose em 1997 e para tratamento da mesma em 1999 ²⁴. O estudo MORE (*Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation*), considerado o maior ensaio clínico multicêntrico envolvendo raloxifeno, trata-se de estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controlado, que envolveu 7.705 mulheres na pós-menopausa com osteoporose, média de idade 66,5 anos, seguidas por 36 meses. Estas mulheres foram designadas aleatoriamente para receber raloxifeno 60 mg, 120 mg ou placebo. Todas receberam suplementação com cálcio elementar (500 mg/dia) e vitamina D (400 UI/dia). Foi observada redução da reabsorção óssea demonstrado pela diminuição de marcadores de reabsorção óssea e aumento de 2% a 3% na densidade mineral óssea de coluna lombar e do colo do fêmur. Houve diminuição de fraturas vertebrais em até 68% no primeiro ano de tratamento e 50% com três anos. Não houve redução na incidência de fraturas de colo do fêmur e não-vertebrais. Como efeitos benéficos, houve também diminuição do risco de câncer de mama em 72% das mulheres tratadas por três anos e diminuição do risco de doença cardiovascular, pela redução de colesterol total, LDL e fibrinogênio. No entanto, ocorreu aumento do risco de doença tromboembólica, mesmo que o risco absoluto para cada paciente fosse pequeno. Como efeitos adversos, foi encontrado aumento dos fogachos (efeito anti-estrogênico no hipotálamo que regula a secreção gonadotrófica) sendo causa de abandono no tratamento de apenas 0,7% das mulheres. A incidência de sangramento vaginal, hiperplasia e adenocarcinoma de endométrio foi similar entre os grupos ²⁵. Estes resultados também foram observados no estudo CORE (Continuing Outcomes of Relevant to Evista) ²⁶. O estudo STAR (Study of

Tamoxifene and Raloxifene), envolveu 19.747 mulheres na pós-menopausa, comparando o uso de tamoxifeno e raloxifeno sobre o risco de desenvolvimento do câncer invasivo de mama. Observou-se que o raloxifeno foi tão efetivo quanto o tamoxifeno em reduzir o risco para o câncer de mama, além de apresentar menor risco para eventos tromboembólicos. As usuárias de tamoxifeno apresentaram maior incidência de câncer de endométrio do que as pacientes com raloxifeno ²⁴. Em todos estudos não há relatos dos efeitos do raloxifeno sobre o epitélio vaginal.

Neven et al., 2004, acompanharam 1008 mulheres na pós-menopausa assintomáticas com osteoporose ou risco cardiovascular por seis a doze meses, avaliando os efeitos sobre o endométrio do raloxifeno 60 mg/dia e do 17- β estradiol 2mg associado com noretisterona 1mg. Demonstraram que as mulheres submetidas à terapia estroprogestativa combinada contínua em comparação ao SERM, apresentaram maior incidência de patologias benignas endometrial, requerendo seguimento mais criterioso na avaliação do endométrio ²⁷. Davis et al., 2006, por meio de estudo experimental analisando os efeitos de vários compostos, entre eles o raloxifeno, no tecido endometrial, demonstraram que o mesmo induziu de forma significativa a apoptose em linhagens de células de câncer endometrial e de células normais, comparativamente ao 17- β estradiol e tecido de células controles. Da mesma forma, o raloxifeno não aumentou os pesos uterinos, presumindo-se um efeito antagonista do receptor estrogênico alfa uterino ²⁸. Semelhantemente, Garcia-Perez et al 2006, estudando os efeitos comparativos do estradiol, raloxifeno e da genisteína em útero de ratas ovariectomizadas, demonstraram que o raloxifeno

promoveu hipotrofia endometrial, com simples camada de células cubóides e sem mitoses²⁹.

Teoricamente, pelo mecanismo de ação através dos receptores estrogênicos, o raloxifeno poderia ter efeito sobre o sistema urogenital e alterar os sintomas de atrofia³⁰. Entretanto, em recente estudo de revisão sistemática³¹, avaliando-se os efeitos sobre o trato urogenital dos moduladores seletivos do receptor estrogênico (SERMs), concluíram que ao contrário dos efeitos positivos no tecido ósseo e no endométrio, pouco se conhece sobre o efeito específico dessas substâncias no trato genito-urinário³¹.

O cloridrato de raloxifeno tem surgido como boa alternativa para a prevenção e o tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa, além das inúmeras discussões quanto seu papel na quimioprevenção do câncer de mama. No entanto, a literatura carece de estudos clínicos determinando sua ação sobre o epitélio vaginal, o que nos motivou a realizarmos esta investigação.

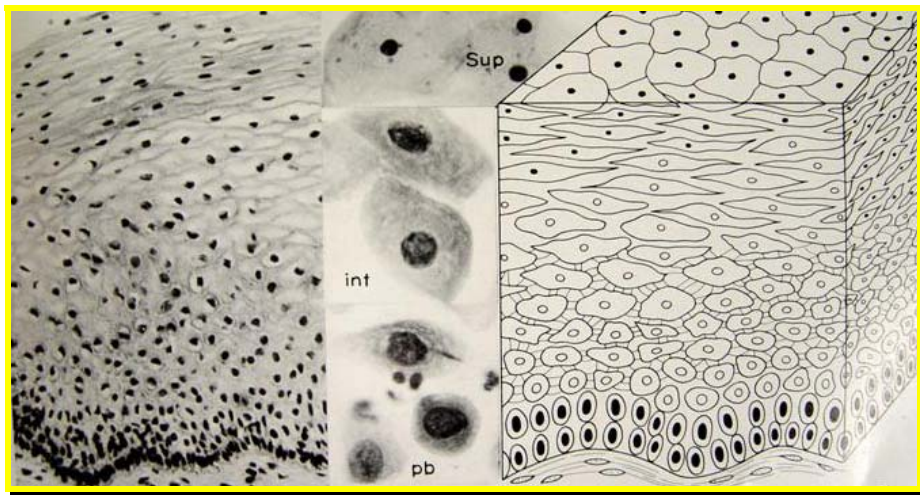


Figura 1 – Foto Esquemática do Epitélio Vaginal Normal

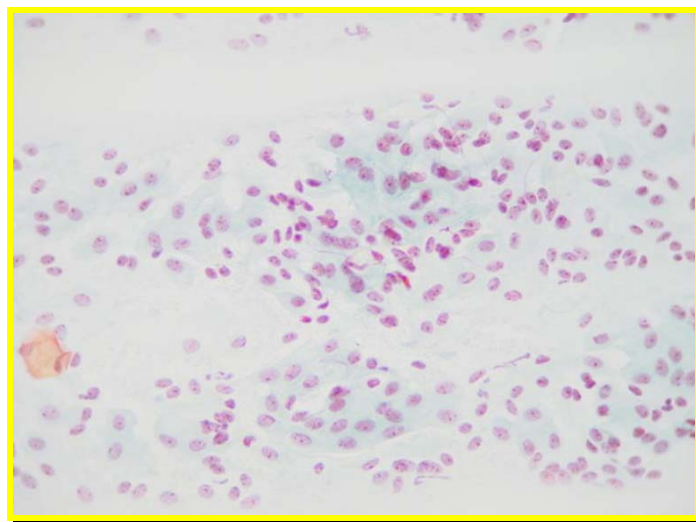


Figura 2 – Citologia-Epitélio Vaginal Atrófico

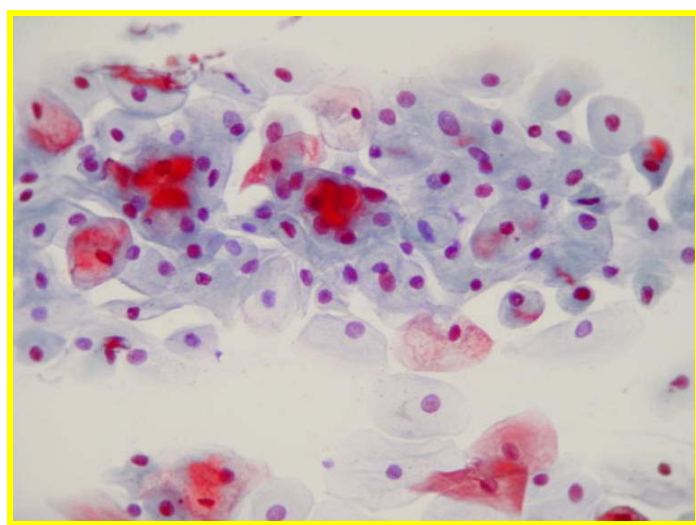


Figura 3 – Citologia-Epitélio Vaginal Hipotrófico

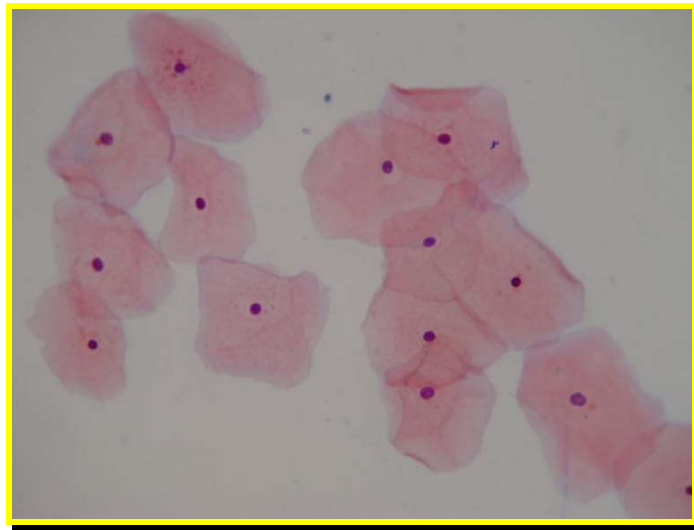


Figura 4 – Citologia-Epitélio Vaginal Trófico

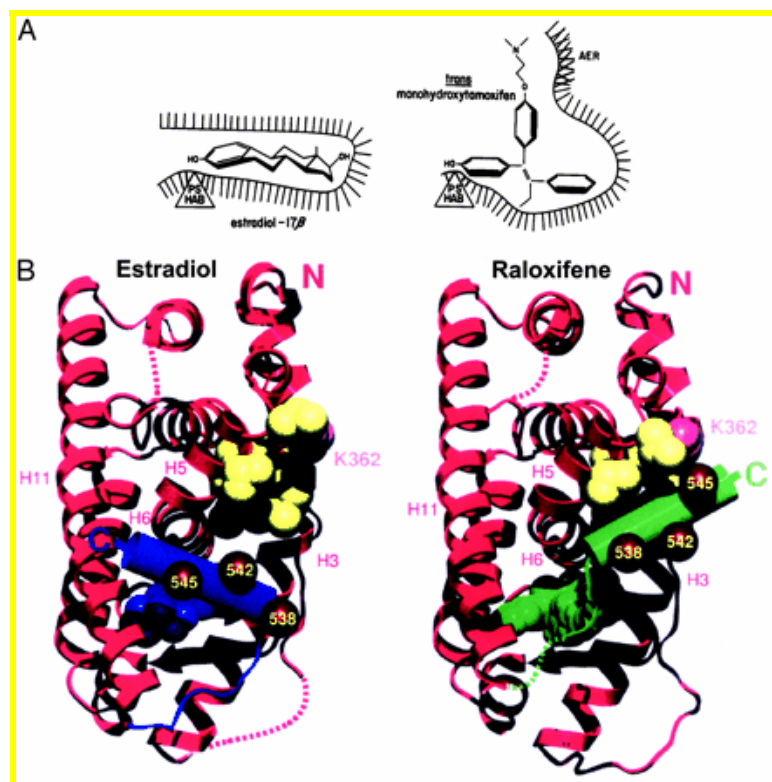
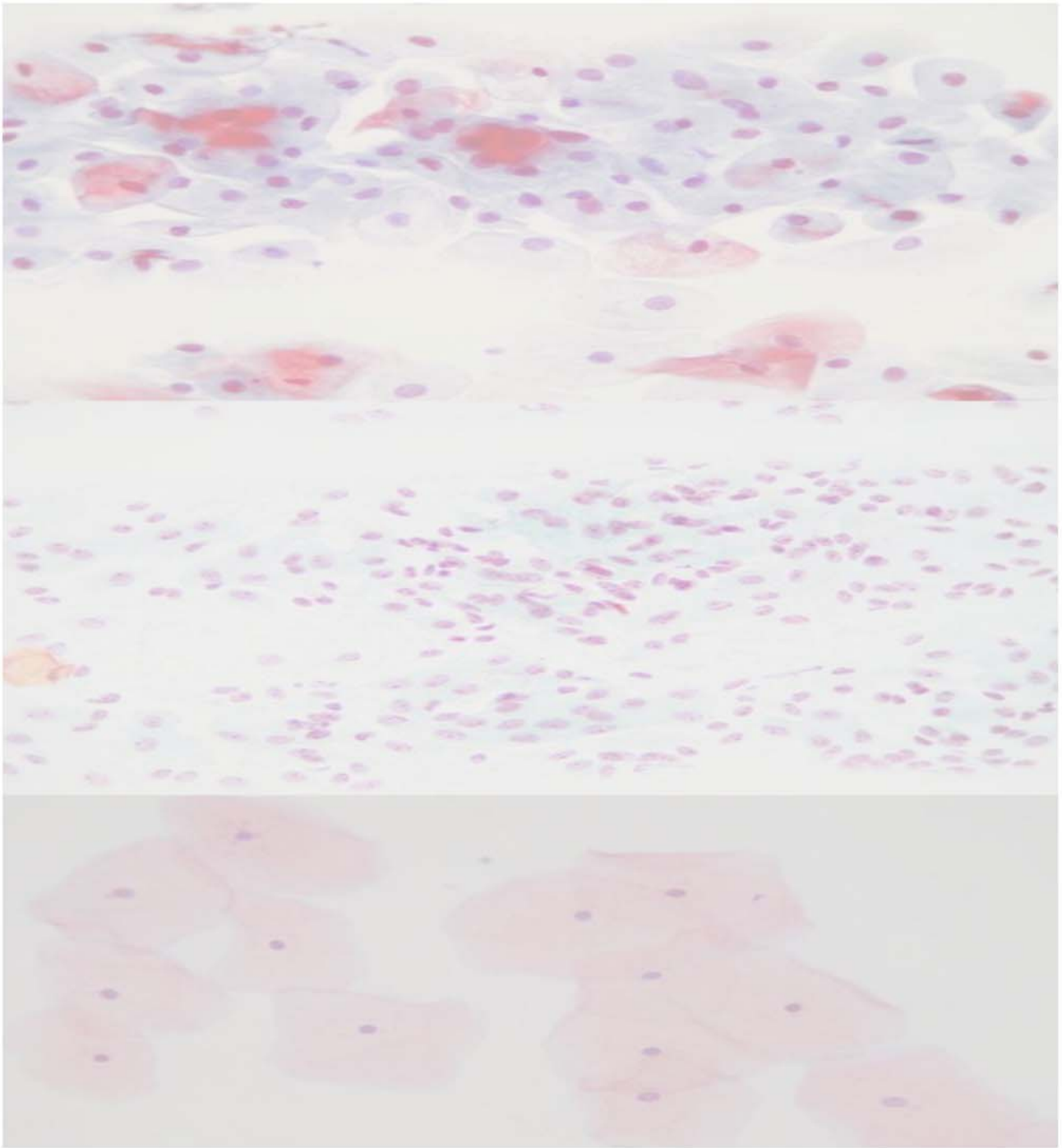


Figura 5 – Foto Esquemática Raloxifeno e Estradiol



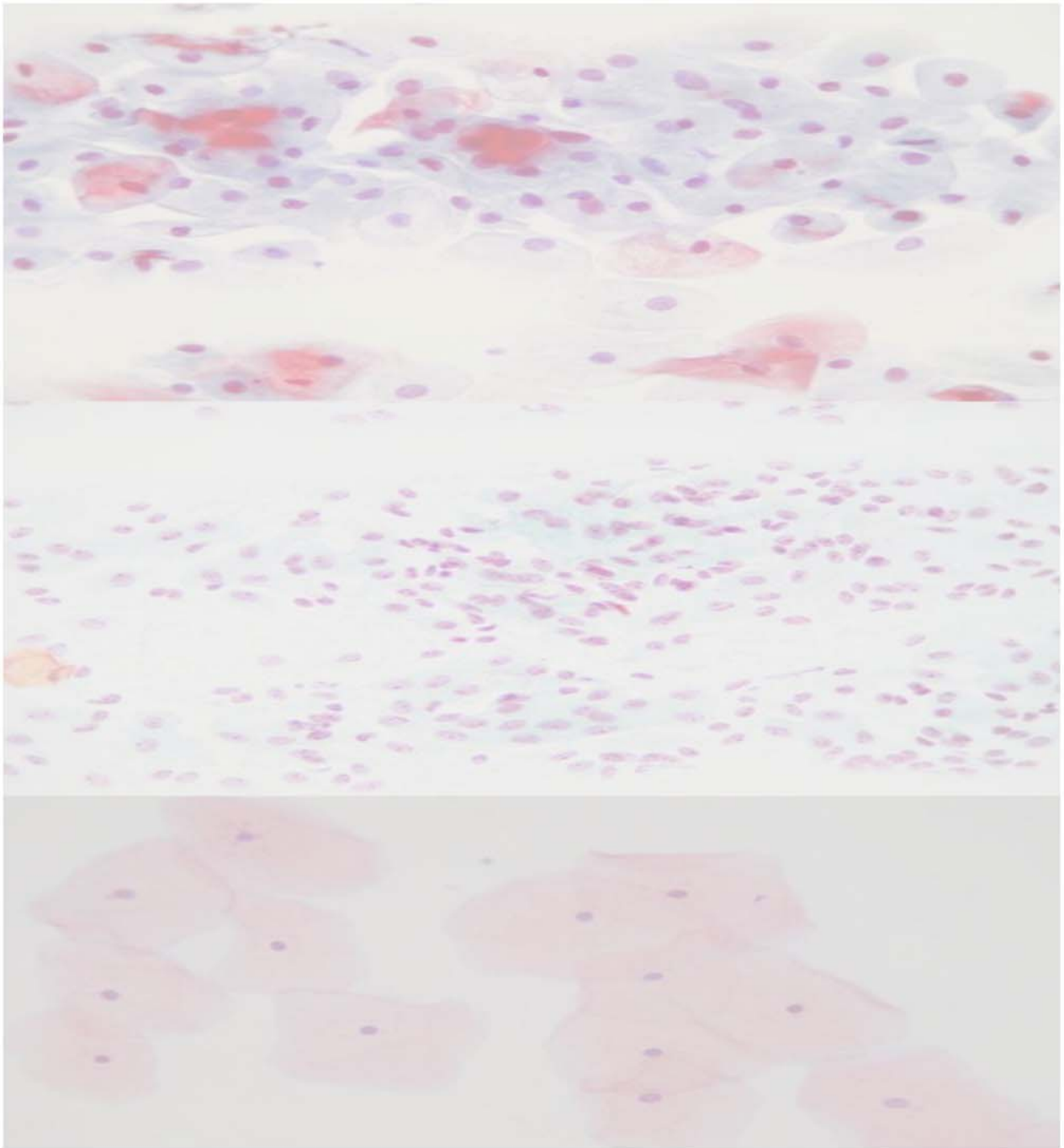
2 Objetivos

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito do raloxifeno sobre o epitélio vaginal de mulheres na pós-menopausa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar o valor de maturação do epitélio vaginal e a porcentagem de células parabasais, intermediárias e superficiais em mulheres na pós-menopausa submetidas ao tratamento com raloxifeno.
 - 2) Correlacionar o valor de maturação do epitélio vaginal com a idade, tempo de menopausa, terapia hormonal, índice de massa corpórea e tabagismo em mulheres na pós-menopausa submetidas ao tratamento com raloxifeno .
-



3 Publicação

EFEITO DO RALOXIFENO NO EPITÉLIO VAGINAL DE MULHERES NA PÓS-MENOPAUSA

RESUMO

Objetivo: Analisar o efeito do raloxifeno sobre o epitélio vaginal de mulheres na pós-menopausa. **Métodos:** Estudaram-se prospectivamente entre novembro de 2004 a fevereiro de 2006, 80 mulheres na pós-menopausa. Quarenta pacientes receberam 60mg/dia de raloxifeno (GR) e 40 mulheres compuseram o grupo não tratado (grupo controle, GC), pareado por idade e tempo de menopausa. O grupo tratado foi composto por pacientes com osteoporose de coluna lombar e/ou colo do fêmur. Foram excluídos aquelas com sinais e/ou sintomas de infecção do trato genital inferior e usuárias de terapia hormonal (TH) até seis meses prévios ao estudo. Os esfregaços vaginais foram coletados em dois momentos: inicial (M0) e após seis meses de seguimento (M1). Para avaliação do epitélio vaginal foi utilizado o valor de maturação, com a contagem de células superficiais, intermediárias e parabasais. Os esfregaços foram analisados por único citopatologista, sem conhecimento dos dados das pacientes. Para análise estatística empregou-se o teste *t* de *Student*, teste Wilcoxon Mann-Witney e o teste Qui-Quadrado. **Resultados:** Na comparação estatística inicial os grupos foram homogêneos. Comparando os momentos inicial e final, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores medianos de maturação do epitélio vaginal e na porcentagem de células superficiais, intermediárias e parabasais entre os grupos. Não foi constatada correlação linear significativa entre o valor de maturação e a idade, o tempo de menopausa, o uso ou não de TH prévia, tabagismo e o índice de massa corpórea, em ambos os grupos. **Conclusão:** O tratamento com raloxifeno por seis meses não alterou o valor de maturação do epitélio vaginal em mulheres na pós-menopausa.

Palavras – chave: Citologia vaginal; Menopausa; Raloxifeno

INTRODUÇÃO

O declínio na produção estrogênica observado em mulheres na pós-menopausa, interfere negativamente na qualidade de vida, repercutindo sobre o bem estar emocional, físico e social da mulher. A deficiência estrogênica interfere em todos os tecidos alvos, como no sistema urogenital, levando a atrofia vaginal, vulvar, disfunção vesical e uretral ^{1,2}. Essas alterações são justificadas pela presença de receptores de estrogênio presentes nos tecidos do assoalho pélvico ^{3,4}. A atrofia resultante do hipoestrogenismo é bem observada no epitélio e nos tecidos pélvicos de sustentação. A mucosa vaginal torna-se fina e seca, que produz desconforto vaginal, ressecamento, dispareunia e inflamação. Os estrogênios agem no trofismo da mucosa uretral e vaginal, no tônus muscular, no tecido conjuntivo dos tratos urinário e genital e sobre a vascularização. A administração de estrogênio é opção segura e eficaz no alívio dos sintomas da atrofia vaginal ^{2,5}. Também tem ação importante na manutenção do ecossistema vaginal, preservando o predomínio dos lactobacilos em sua flora e a acidez vaginal, importante forma de proteção contra a aquisição de infecções vaginais ⁶. Os benefícios da terapia hormonal na conservação do trofismo urogenital e no tratamento dos fenômenos atróficos estão bem estabelecidos ^{7,8}.

A identificação dos receptores estrogênicos (α e β) em laboratório forneceu mecanismos para descrever a ação tecidual específica dos estrogênios no útero, vagina, osso e mama ⁹. Os moduladores

específicos desses receptores pertencem a uma classe de drogas que atuam de forma seletiva nos receptores estrogênicos exercendo efeitos agonistas ou antagonistas em diferentes tecidos alvos, conhecidos como SERMs. Seu mecanismo de ação tecidual específica depende da variação na expressão dos receptores estrogênicos nos diferentes tecidos, da conformação que o receptor adquire após ligação com o SERM e da disponibilidade local de proteínas co-reguladoras que podem ser ativadoras ou repressoras ¹⁰. O cloridrato de raloxifeno, uma segunda geração do SERM, liga-se na sua porção inferior de forma semelhante ao estrogênio e, sua cadeia lateral diferentemente do estrogênio, explicando suas propriedades antagonistas na mama e no útero ⁹. Apresenta atividade anti-tumoral em células do câncer de mama e endométrio *in vitro* e previne a carcinogênese mamária em ratas ^{11,12}. Possui atividade agonista no metabolismo ósseo ¹³ e em vários parâmetros intermediários de eventos cardiovasculares como valores séricos de lipídeos, lipoproteínas e fibrinogênio ¹⁴. Por tudo, o raloxifeno tem surgido como boa alternativa para a prevenção e o tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa, além das inúmeras discussões quanto a seu papel na quimioprevenção do câncer de mama ¹⁵.

Nos grandes ensaios clínicos envolvendo a utilização do raloxifeno em mulheres na pós-menopausa, não há referência quanto aos efeitos sobre o epitélio vaginal ^{13,14,15}. Em recente estudo de revisão sistemática, avaliando-se os efeitos sobre o trato urogenital dos moduladores seletivos do receptor estrogênico (SERMs), conclui-se que ao

contrário dos efeitos positivos no tecido ósseo e no endométrio, pouco se conhece sobre o efeito específico dessas substâncias sobre o trato genitourinário ¹⁶.

Assim, o propósito deste estudo foi analisar o efeito do raloxifeno sobre o epitélio vaginal de mulheres na pós-menopausa, visando principalmente o bem-estar urogenital das pacientes.

METODOLOGIA

Seleção da amostra

O grupo populacional constituiu-se de pacientes acompanhadas no Ambulatório de Climatério e Menopausa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, no período de novembro de 2004 a fevereiro de 2006. Para participar deste estudo clínico e prospectivo, foram selecionadas 80 mulheres na pós-menopausa, na faixa etária de 46 a 74 anos. Incluiu-se no estudo mulheres com data da última menstruação há pelo menos 12 meses. O grupo tratado foi composto por pacientes com osteoporose de coluna lombar e/ou colo do fêmur, diferentemente do grupo controle com densidade mineral óssea normal. A massa óssea foi avaliada por meio de densitometria óssea de coluna lombar e colo de fêmur. Foram excluídas mulheres com sintomatologia climatérica, infecção do trato genital inferior, sangramento uterino anormal, litíase ativa

renal, alterações hepáticas e história de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, tromboembolismo e, cânceres de mama, endométrio e colo. Nenhuma paciente usava terapia hormonal até seis meses antes do estudo. Esclareceu-se aos indivíduos selecionados, os objetivos e procedimentos a que seriam submetidos, assinando o consentimento livre e esclarecido exigência da resolução nº 196/outubro/1996 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (Of 534/2004).

MÉTODOS

As 80 pacientes envolvidas nesse estudo foram alocadas em dois grupos: 40 mulheres pertenciam ao grupo tratado (GR), que receberam 60mg ao dia de cloridrato de raloxifeno (Evista®, Lilly), e 40 mulheres pertenciam ao grupo não tratado, constituindo o grupo controle (GC), pareadas por idade e tempo de menopausa. Todas as pacientes foram seguidas por período de seis meses, com avaliações nos momentos: inicial (M0) e final (M1).

Inicialmente foram obtidos dados da anamnese, exame físico e exame ginecológico das pacientes. No protocolo de cada paciente obtiveram-se os seguintes dados: idade, idade da menopausa, tempo de menopausa, paridade, uso ou não de TH, uso ou não de tabaco e índice de massa corpórea (IMC). Para o cálculo do IMC foram mensurados o peso e a

altura ($\text{IMC} = \text{peso} / \text{altura}^2$). Empregaram-se os critérios da *World Health Organization* de 2002 que considera IMC menor que $18,5 \text{ kg/m}^2$ como baixo peso, de $18,5$ a $24,9 \text{ kg/m}^2$ normal, de 25 a $29,9 \text{ kg/m}^2$ sobrepeso, de 30 a $34,9 \text{ kg/m}^2$ obesidade grau I, de 35 a $39,9 \text{ kg/m}^2$ obesidade grau II e maior ou igual a 40 kg/m^2 obesidade grau III ¹⁷.

Todas as pacientes foram submetidas a minucioso exame ginecológico, exame a fresco, e citologia oncótica. Depois de descartado doenças do trato genital inferior, foram realizados esfregaços citológicos do 1/3 médio da parede lateral de vaginal. Os esfregaços foram coletados em dois momentos: M0, antes do tratamento e M1, após seis meses de seguimento. Imediatamente após coleta do material com espátula de Ayres em lâmina de vidro, o mesmo foi fixado com “laquê” (fixador citológico) e encaminhado ao laboratório de citologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, sendo corado com corantes de Shorr e/ou Papanicolaou. As amostras foram analisadas por único citologista, às cegas, sem o conhecimento dos dados das pacientes, se tratadas com raloxifeno ou controle. Para avaliação do estado hormonal, foi realizado o índice de maturação de Frost, que expressa a maturação do epitélio pavimentoso estratificado pela relação da porcentagem entre células parabasais (P), células intermediárias (I) e células superficiais (S), em aproximadamente 300 células epiteliais ¹⁸. Obtendo-se este índice foi calculado o valor de maturação segundo Meisels, que se atribui valores aos subgrupos de células pavimentosas: 0,0 para células parabasais, 0,5 para células intermediárias e 1,0 para células superficiais. Assim, o valor de

maturação (VM) foi determinado pela soma dos produtos da porcentagem de cada categoria de células pelo seu respectivo valor ¹⁹. A interpretação do valor de maturação foi definida: hiperestrogenismo 90-100, hipoestrogenismo 31-55, atrofia 0-30 e ciclo sexual normal 60-90.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A partir dos dados foram geradas tabelas principais descrevendo as pacientes segundo as características pessoais e laboratoriais. Na comparação dos GR e GC com relação as variáveis, idade, tempo de menopausa e IMC, foi utilizado o teste *t* de *Student*. Com relação às variáveis, idade da menopausa, paridade e valor de maturação, foi utilizado o teste de Wilcoxon Mann-Witney. Na análise dos grupos no momento inicial em relação ao IMC foi utilizado o teste *t* de *Student*, enquanto que para o valor de maturação foi utilizado o teste de Wilcoxon Mann-Witney. Os dados foram apresentados em média $\pm$ desvio padrão e mediana. Para testar a associação entre os grupos com o uso de TH e o hábito de fumar, foram construídas tabelas de contingência e, utilizado o teste de Qui-Quadrado (todas para amostras independentes). Para comparar os momentos inicial e final de IMC dentro de cada grupo foi utilizado o teste *t* de *Student*. Com relação aos momentos inicial e final do valor de maturação dentro de cada grupo, foi utilizado o teste de Wilcoxon Mann-Witney (ambas para amostras pareadas). Para verificar, dentro de cada grupo, se existe

diferença significativa entre os grupos formados pelas mulheres que usaram e que não usaram TH com relação ao valor inicial de maturação, foi utilizado o teste de Wilcoxon Mann-Witney para amostras independentes. Em todas as análises efetuadas, os resultados estatísticos foram considerados significativos quando $p < 0,05$, onde p é a probabilidade de erroneamente concluir pela significância.

RESULTADOS

As características clínicas iniciais das pacientes submetidas ao raloxifeno (GR) e aquelas do grupo controle (GC), foram submetidas à comparação estatística, e estão representadas na Tabela 1. Verificou-se que os grupos foram homogêneos para a maior parte das variáveis estudadas, não apresentando diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$). Apenas, observou-se que as pacientes pertencentes ao grupo controle apresentavam maior índice de massa corpórea (IMC), comparativamente ao grupo tratado com o raloxifeno, porém sendo classificadas como sobrepeso em média ($IMC \leq 29,9 \text{ Kg/m}^2$) (Tabela 1).

Comparando-se os momentos inicial e final dos valores médios do IMC em cada um dos grupos, verificou-se que as pacientes submetidas ao tratamento com raloxifeno apresentaram ganho de peso significativo, diferentemente do grupo controle que não se alterou durante o seguimento de seis meses (Tabela 2).

Na Tabela 3 são apresentados à comparação entre os momentos inicial e final dos valores medianos do valor de maturação vaginal. Levando-se em consideração os valores basais, após 6 meses de uso do raloxifeno, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os momentos (Tabela 2). Em ambos os grupos, os valores medianos de maturação mantiveram-se hipoestrogênicos, de 31 a 55, não havendo diferenças entre os grupos.

Nas Figuras de 1 a 3 são apresentadas as comparações do percentual médio das células superficiais, intermediárias e parabasais, nos momentos inicial e final. Não houve variação do percentual das células ao longo do seguimento em ambos os grupos. Ao final do estudo, as células superficiais representaram, no grupo tratado 2,8% e no grupo controle 4,0%, as células intermediárias 47,8% e 66,75%, e as parabasais 49,10% e 29,15%, respectivamente, sem diferença significativa entre os grupos (Figuras de 1 a 3).

Não foi constatada correlação linear significativa entre o valor de maturação e a idade, o tempo de menopausa, o tabagismo, o uso ou não de TH prévia e o índice de massa corpórea (inicial e final), em ambos os grupos. Entre as pacientes tratadas com raloxifeno, 45% (18/40) relatava utilização de TH no passado e no grupo controle, 42,5% (17/40), não havendo diferença entre os grupos. A incidência de tabagismo no grupo tratado foi de 12,5% (5/40) e no grupo controle foi de 15% (6/40), sem diferença significativa entre os grupos.

DISCUSSÃO

Os moduladores seletivos dos receptores estrogênicos conhecidos como SERMs, são compostos empregados com o objetivo de imitar os benefícios do estradiol com mínimos efeitos adversos. O raloxifeno, um SERM de segunda geração, apresenta efeito agonista no tecido ósseo e antagonista no endométrio e na mama. Entretanto, apesar de não demonstrar eficiência similar ao estradiol para o alívio dos sintomas climatéricos, apresenta efeito protetor em endométrio e mama, reduzindo a incidência de câncer invasivo de mama receptor estrogênico-dependente ¹³. Contudo, o cloridrato de raloxifeno é um SERM utilizado e aprovado pelo FDA desde 1997 para prevenção e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa e sucinta discussão quanto ao seu papel na quimioprevenção do câncer de mama ¹⁵. Por essa razão, há necessidade de futuras investigações, principalmente, na compreensão da ação dos estrogênios nas células e nos fatores reguladores teciduais, com o objetivo de se desenvolver novas drogas com seletividade tecidual visando substituir o tratamento do estrogênio nos sintomas climatéricos ²⁰.

Aproximadamente 40% das mulheres apresentarão sintomas decorrentes da atrofia vulvar e vaginal no período da pós-menopausa ²¹. Ao contrário dos conhecidos efeitos positivos sobre o tecido ósseo e endometrial, pouco se conhece sobre a ação do raloxifeno no trato genito-urinário ¹⁶. No presente estudo, comparando os momentos inicial e final dos valores medianos de maturação do epitélio vaginal, não houve diferença estatisticamente significativa entre as usuárias de raloxifeno e o controle. Semelhantemente, não foram observadas alterações relação à porcentagem

de células parabasais, intermediárias e superficiais. Esses resultados estão em concordância com outros autores^{22,23,24}. Contudo, a literatura carece de estudos clínicos avaliando diretamente os efeitos do raloxifeno sobre a maturação do epitélio vaginal.

Em 2003, Vardy et al. compararam os efeitos sobre o trato urogenital do raloxifeno, tamoxifeno, estrogênios eqüinos conjugados (EEC) e placebo em 57 mulheres na pós-menopausa, entre 45 e 70 anos, durante 20 semanas. Relataram que ambos, raloxifeno e tamoxifeno, não apresentaram melhora da atrofia vaginal quando comparados aos estrogênios conjugados. Em 2005, Checa et al. avaliaram os sintomas vaginais em mulheres com osteoporose após suspensão da terapia hormonal. Um total de 136 mulheres (média de idade 55 anos) foram randomizadas para raloxifeno ou cálcio e vitamina D. Ao final de 12 meses, observaram redução no valor de maturação de 32% nas usuárias de raloxifeno e de 38,7% sob cálcio/vitamina D, embora sem repercussão clínica para as pacientes. No mesmo ano, Komi et al. estudaram os efeitos do raloxifeno (60mg) e do ospemifene em diferentes dosagens (30, 60 e 90 mg), sobre o trato genital, perfil hormonal e lipídios de 118 mulheres na pós-menopausa, durante 3 meses. Observaram redução do FSH com 90 mg de ospemifene, enquanto que apenas com raloxifeno houve diminuição de colesterol total e LDL. Todos os grupos com ospemifene demonstraram efeito estrogênico sob o epitélio vaginal com diminuição da porcentagem de células parabasais e aumento das células intermediárias e superficiais, em contraste com raloxifeno que não apresentou modificações na porcentagem

de células vaginais. Os autores demonstraram a importância deste novo SERM na melhoria do trofismo do epitélio vaginal e a necessidade de avaliar seu efeito em longo prazo ²⁴.

Em estudo experimental, Hascalik et al., comparando os efeitos do resveratrol (fitoestrogênio), raloxifeno, tibolona e EEC sobre o epitélio vaginal de ratas ooforectomizadas, demonstraram o grupo sob EEC apresentou maior porcentagem de células superficiais que os demais grupos. O raloxifeno não mostrou nenhuma atividade estrogênica sobre a citologia vaginal de ratas castradas ²⁵. Em 2006, Wang et al. avaliaram os efeitos do lasofoxifene, raloxifeno, tamoxifeno e estradiol sobre o útero e vagina de ratas imaturas ooforectomizadas. Lasofoxifene e raloxifeno mostraram mínimo efeito no peso da vagina e do útero quando comparado ao aumento com estradiol e tamoxifeno. Entretanto o lasoxifeno elevou a produção de muco vaginal, sem causar proliferação celular no trato genital. Os autores relataram que esse efeito pode decorrer do aumento na expressão dos receptores estrogênicos β e androgênicos, observado somente com o lasoxifeno, com maior responsividade da vagina a baixos níveis circulantes de hormônios sexuais em estados de deficiência estrogênica ²⁶.

Os anti-estrogênios podem ser classificados em dois grupos: tipo 1, análogos do tamoxifeno e seus metabólitos, que possuem ação agonista e antagonista em receptores de estrogênio (SERMs) e o tipo 2, anti-estrogênios puros sem nenhuma ação agonista. Seus mecanismos de ação são pela competitividade com o receptor estrogênico, principalmente α ,

bloqueando a ligação do estradiol e alterando a forma do complexo receptor para prevenir replicação celular. Além disso, os anti-estrogênios têm ação na regulação de três fatores de crescimento celular: fator de crescimento alfa, fator de crescimento beta e fator de crescimento insulina-like. O estrogênio aumentaria a produção do fator de crescimento alfa, sendo essa ação parcialmente bloqueada pelo tamoxifeno e seus metabólitos. O fator de crescimento beta tem ação de inibir a proliferação celular. Os anti-estrogênios atuam aumentando sua expressão. O fator de crescimento insulina-like também estimula a multiplicação celular e é inibido pelos anti-estrogênios ¹⁰.

O raloxifeno, um SERM de segunda geração com todas as propriedades dos anti-estrogênios tipo 1, é utilizado na prevenção e tratamento da osteoporose, pois mantém a densidade óssea e reduz a incidência de câncer de mama, sem alterar a espessura endometrial ^{13,15}. Kessel et al, avaliaram a função sexual de 187 mulheres na pós-menopausa, com idade entre 42 e 80 anos por seis meses, randomizadas para receberem raloxifeno 60 mg/dia ou placebo via oral e, concomitantemente, creme vaginal de estrogênios conjugados ou creme não hormonal. Ao final do estudo, tanto nas usuárias de raloxifeno como de placebo, notou-se evidente melhora da secura vaginal e redução do desconforto durante atividade sexual com a utilização de creme vaginal de estrogênios conjugados. Os autores concluíram que o raloxifeno não exerceu efeito negativo na função sexual das mulheres na pós-menopausa com atrofia vaginal tratadas concomitantemente com estrogênio tópico ²⁷. Outros

estudos demonstraram a eficácia da terapia estrogênica por diferentes vias de administração quanto à melhoria do trofismo vaginal ^{5,28,29}. Mulheres na pós-menopausa com indicação para utilização de cloridrato de raloxifeno e que apresentarem sinais e sintomas de atrofia genital, poderiam beneficiar-se da reposição estrogênica tópica.

O estradiol é o principal estrogênio secretado pelo ovário no menacme. Apresenta múltiplos efeitos, sendo utilizado para aliviar os sintomas climatéricos, porém seu mecanismo de ação não está totalmente elucidado. Estudos moleculares têm demonstrado a complexidade da ação desses compostos. Atuam ocupando receptores estrogênicos, α e β , mas também teriam ação não genômica a nível citoplasmático, promovendo a proliferação tecidual. A eficiência da atuação nos receptores estrogênicos e na interação com as proteínas citoplasmáticas, pode modular variáveis intracelulares entre as proteínas co-ativadoras e co-repressoras ⁹.

A presença de receptores estrogênicos nas paredes vaginais pode explicar o adelgaçamento do epitélio e diminuição da lubrificação vaginal em mulheres na pós-menopausa ^{4,30}. Estudo avaliando amostras de tecido vaginal em 75 mulheres na pré - e na pós - menopausa, usuárias e não usuárias de TH, observou a presença de receptores estrogênicos α e β no grupo de mulheres na pré-menopausa. Contudo, pós-menopausa associou-se a diminuição importante da isoforma β , mesmo com uso de TH, enquanto a expressão da isoforma α estava preservada. Portanto, a presença de RNA mensageiro para receptor estrogênico α e β demonstra expressão diferente em parede vaginal anterior de mulheres na pré e na

pós-menopausa ³. O receptor de estrogênio β possivelmente modula ou inibe o receptor α ¹⁰. Mudanças na relação α e β poderiam explicar as diferentes respostas à terapia hormonal e ao raloxifeno que possivelmente não é capaz de reproduzir a relação α e β como nas mulheres na pré-menopausa. Sugere-se que outras substâncias como fatores de crescimento e citocinas são necessárias para restaurar os níveis pré-menopausa dos receptores estrogênicos ³.

Em conclusão, o tratamento com raloxifeno em mulheres com osteoporose de coluna lombar e/ou colo de fêmur, por seis meses, não alterou o valor de maturação do epitélio vaginal na pós-menopausa, demonstrando que este medicamento não melhora o trofismo vaginal, necessitando de tratamentos específicos para esse fim.

REFERÊNCIAS

- 1 Castelo-Branco C, Cencelo MJ, Villero J, Nohales F, Juliá MD, Management of post-menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis. *Maturitas* 2005;52:S46-S52.
 - 2 Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada- SOGC. The detection and management of vaginal atrophy. *Int J Gynaecol Obstet* 2005;88:222-8.
 - 3 Gebhart JB, Rickard DJ, Barrett TJ, et al. Expression of estrogen receptor isoforms α and β messenger RNA in vaginal tissue of premenopausal and postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:1325-31.
 - 4 Carley ME, Rickard DJ, Gebhart JB, Webb MJ, Podratz KC, Spelsberg TC. Distribution of estrogen receptors alfa and beta mRNA in mouse urogenital tissues and their expression after oophorectomy and estrogen replacement. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2003;14:141-5.
 - 5 Nothnagle M, Taylor JS. Vaginal estrogen preparations for relief of atrophic vaginitis. *Cochrane for Clinicians: putting evidence into practice.* *AFP* 2004;69:1-4. <http://www.cochrane.org/cochrane/revabstr/AB001500.htm>.
-

- 6 Heinemann C, Reid G. Vaginal microbial diversity among postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Can J Microbiol* 2005;51:777-81.
 - 7 NAMS (The North American Menopause Society). Recommendations for estrogen and progestogen use in peri- and postmenopausal women : October 2004 position statement of NAMS. *Menopause* 2004;11:589-600.
 - 8 Skouby SO, Al-Azzawi E, Barlow D, et al. Climateric Medicine: European Menopause and Andropause Society (EMAS) 2004/2005 position statements on peri- and postmenopausal hormone replacement therapy. *Maturitas* 2005;16:1-3.
 - 9 Jensen EV, Jordan VC. The estrogen receptor: a model for molecular medicine. *Clin Cancer Res* 2003;9:1980-9.
 - 10 MacGregor JI, Jordan VC. Basic guide to the mechanisms of antiestrogen action. *Pharmacol Rev* 1998;50:151-96.
 - 11 Anzano MA, Peer CW, Smith Jm, et al. Chemoprevention of mammary carcinogenesis in the rat: combined use of raloxifene and 9-cis-retinoic acid. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:123-5.
-

- 12 Davis AM, Ellersieck MR, Grimm KM, Rosenfeld CS. The effects of the selective estrogen receptor modulators, methyl-piperidino-pyrazole (MPP), and raloxifene in normal and cancerous endometrial cell lines and in the murine uterus. *Mol Reprod Dev* 2006;73:1034-44.
 - 13 Cauley JA, Norton L, Lippman ME, et al. Continued breast cancer risk reduction in postmenopausal women treated with raloxifene: 4-year results from the MORE trial. *Breast Cancer* 2001;65:125-34.
 - 14 Martino S, Cauley JA, Barrett-Connor E, et al. For the CORE Investigators. Continuing outcomes relevant to Evista: breast cancer incidence in postmenopausal osteoporotic women in a randomized trial of raloxifene. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1751-61.
 - 15 Vogel VG, Constantino JP, Wickerham DL, et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes. The NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 Trial. *JAMA* 2006;295:2727-41.
 - 16 Albertazzi P, Sharma S. Urogenital effects of selective estrogen receptor modulators; a systematic review. *Climateric* 2005;8:214-20.
 - 17 WHO. Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. In: World Health Organization. Geneva: WHO/FAO (Reposts of WHO/FAO. Expert Consultation on diet, nutrition and prevention of chronic diseases), 2002.
-

- 18 Frost JK, Novak EI, Woodruff JD. Gynecologic and Obstetric pathology. W B Sanders, Philadelphia, p.602, 1962.
 - 19 Meisels A. The maturation value. *Acta Cytol* 1967;11:249-53.
 - 20 Gompel A. Molecular action of estrogens and anti-estrogens. *Maturitas* 2006;54:313-14.
 - 21 Goldstein I, Traish A, Kim N, Munarriz R. The role of steroid hormones in female sexual function and dysfunction. *Clin Obstet Gynecol* 2004;47:471-84.
 - 22 Vardy MD, Lindsay R, Scotti RJ, et al. Short-term urogenital effects of raloxifene, tamoxifene and estrogen. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:81-8.
 - 23 Checa MA, Garrido A, Prat M, Conangla M, Rueda C, Carreras R. a comparison of raloxifene and calcium plus vitamin D on vaginal atrophy after discontinuation longstanding postmenopausal hormone therapy in osteoporotic women: a randomized masked-evaluator, one-year, prospective study. *Maturitas* 2005;52:70-7.
 - 24 Komi J, Lankinen KS, Härkönen P, et al. Effects of ospemifene and raloxifene on hormonal status, lipids, genital tract, and tolerability in postmenopausal women. *Menopause* 2005;12:202-9.
-

- 25 Hascalik S, Celik O, Tamser M, Mizrak B. Effects of resveratrol, raloxifene, tibolone and conjugated equine estrogen on vaginal squamous cell maturation of ovariectomized rats. *Gynecol Obstet Invest* 2005;60:186-91.
- 26 Wang XN, Simmons HA, Salato CT, Cosgrove PG, Thompson DD. Lasofoxifene enhances vaginal mucus formation without causing hypertrophy and increases estrogen receptor β and androgen receptor in rats. *Menopause* 2006;13:609-20.
- 27 Kessel B, Nachtigall L, Plouffe L, Siddhanti S, Rosen A, Parsons A. Effect of raloxifene on sexual function in postmenopausal women. *Climateric* 2003; 6(3):248-56.
- 28 Pinkerton JV, Santen R. Use of alternatives to estrogen for treatment of menopause. *Minerva Endocrinol* 2002;27(1):21-41.
- 29 Ben-Chetrit A, Hochner-Celnikier D, Lindenberg T, et al. Vaginal ring delivering estradiol and progesterone: a possible alternative to relieve climateric symptoms. *Isr Med Assoc J*. 2005May;7(5):302-6.
- 30 Malacara JM, Perez-Luque EL, Martinez-Garza S, Sanches-Marin FJ. The relationship of estrogen receptor-alpha polymorphism with symptoms and other characteristics in post-menopausal women. *Maturitas* 2004; 15:49:163-9.
-

Tabela 1 – Comparação das características clínicas iniciais entre os grupos (valores médios $\pm$ desvios padrão).

Variáveis	GR (n=40)	GC (n=40)	Valor de p*	Comentário
Idade (anos)	60,92 $\pm$ 7,55	60,35 $\pm$ 6,12	0,71	GR=GC
Tempo de Menopausa (anos)	13,37 $\pm$ 7,87	12,17 $\pm$ 6,96	0,47	GR=GC
Idade da Menopausa (anos)	47,52 $\pm$ 5,41	47,67 $\pm$ 3,89	0,88	GR=GC
Paridade (nº de filhos)	3,22 $\pm$ 2,34	3,05 $\pm$ 1,93	0,89	GR=GC
IMC (kg/m ²)	25,15 $\pm$ 4,20	29,31 $\pm$ 4,79	<0,001	GR< GC

GR, Grupo Raloxifeno; GC, Grupo Controle.

Tabela 2 – Comparação entre os momentos inicial e final com relação ao IMC para cada grupo (média $\pm$ desvio padrão)

	GC	GR
IMC M0	29,31 $\pm$ 4,79	25,16 $\pm$ 4,21
IMC M1	29,34 $\pm$ 4,68	25,48 $\pm$ 4,28

Comparação entre os momentos inicial e final com relação ao IMC para cada grupo:

GC: p = 0,758 (t de Student)

GR: p = 0,018 (t de Student)

Tabela 3 – Comparação entre os momentos inicial e final, dos Valores medianos de Maturação (VM) nos grupos Raloxifeno (GR; n=40) e Controle (GC; n=40)

Grupo	Valor de Maturação	Mediana	Valor de p*	Comentário
GR	M0	39,75	0,758	VMM0 = VMM1
	M1	35,75		
GC	M0	50,0	0,203	VMM0 = VMM1
	M1	50,0		

M0, Momento Inicial; M1, Momento Final

* Teste de Wilcoxon pareado.

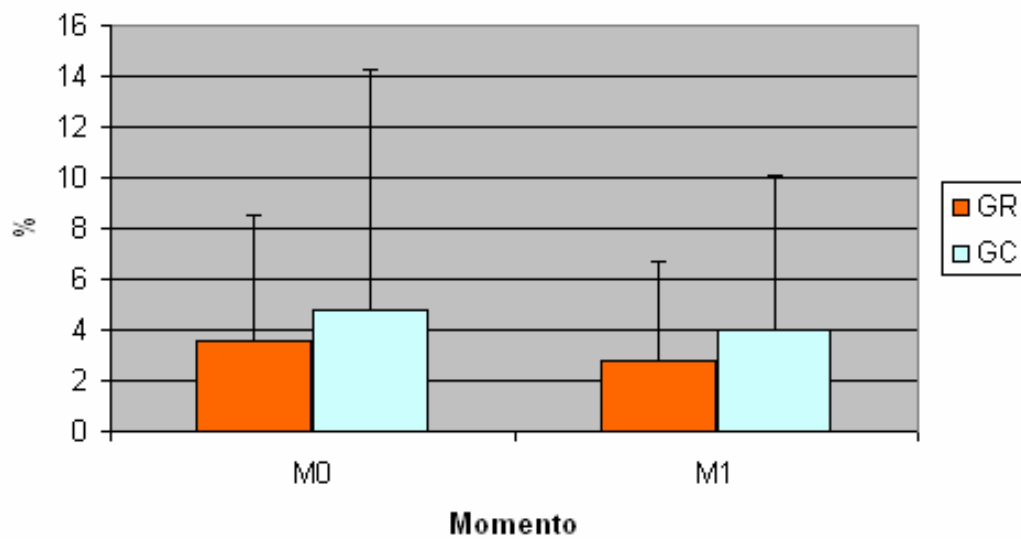


Figura 1 – Comparação entre GR e GC com relação ao percentual de células superficiais em cada momento

No momento M0 : GR = GC $p = 0,809$ (Teste de Wilcoxon)

No momento M1 : GR = GC $p = 0,148$ (Teste de Wilcoxon)

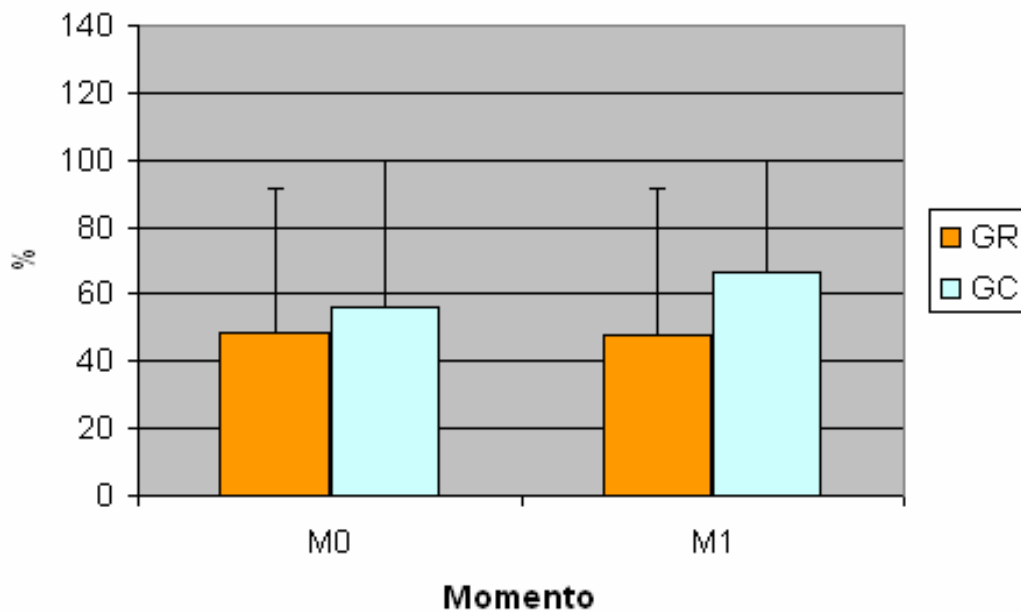


Figura 2 – Comparação entre GR e GC com relação ao percentual de células intermediárias em cada momento

No momento M0 : GR = GC $p = 0,203$ (Teste de Wilcoxon)

No momento M1 : GR = GC $p = 0,088$ (Teste de Wilcoxon)

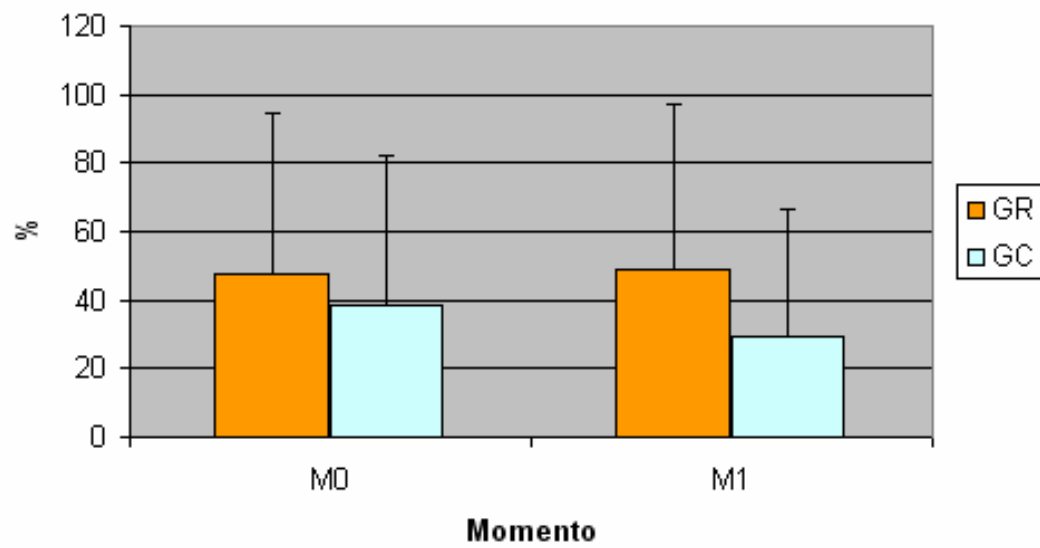
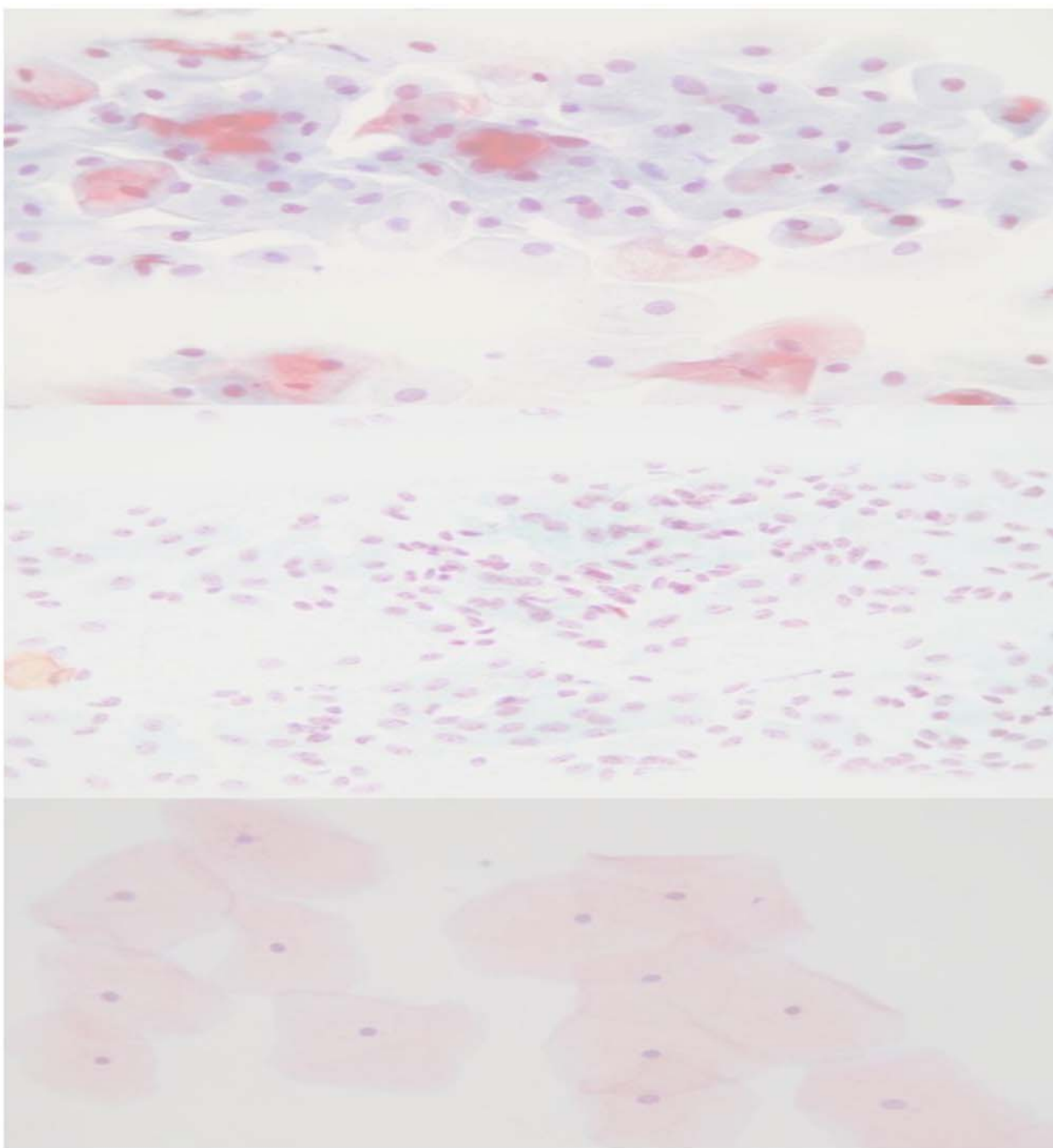


Figura 3 – Comparação entre GR e GC com relação ao percentual de células parabasais em cada momento

No momento M0 : GR = GC $p = 0,232$ (Teste de Wilcoxon)

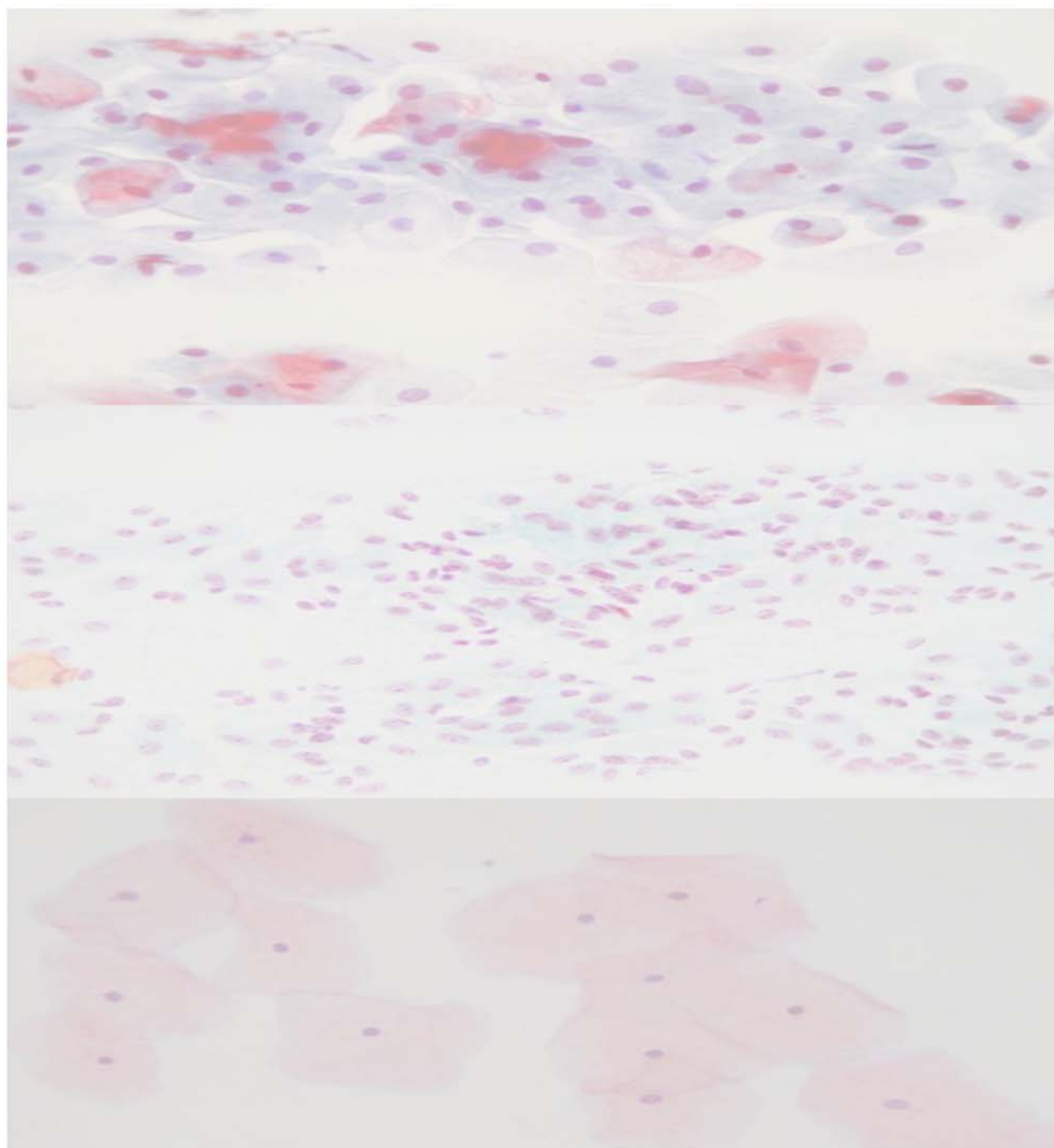
No momento M1 : GR = GC $p = 0,055$ (Teste de Wilcoxon)



4 Conclusões

1) O valor de maturação do epitélio vaginal e a percentagem de células parabasais, intermediárias e superficiais em mulheres na pós-menopausa submetidas ao tratamento com raloxifeno não se alterou durante o seguimento de seis meses.

2) Não houve correlação linear significativa entre o valor de maturação do epitélio vaginal e a idade, tempo de menopausa, terapia hormonal, índice de massa corpórea e tabagismo em mulheres na pós-menopausa submetidas ao tratamento com raloxifeno.



5 Referências Bibliográficas

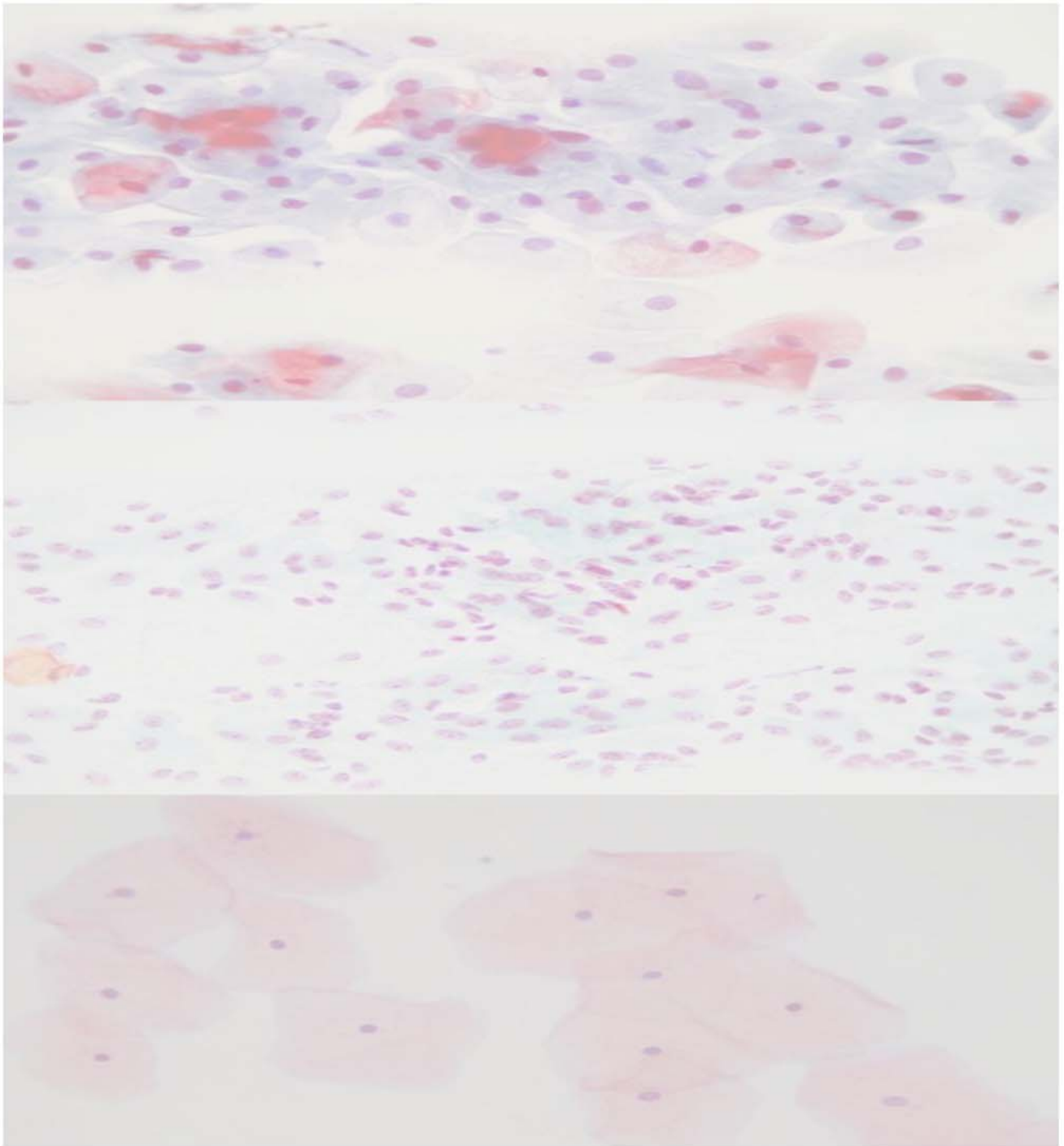
- 1 Organização Mundial da Saúde. Report of a World Health Statistics. Geneva: WHO; 1989.
 - 2 Adashi EY. The climateric ovary as a functional gonadotrofin-driven androgen-producing gland. *Fertil Steril* 1994; 62:20-7.
 - 3 Blumel JE, Chedraui P, Calle A, et al. Age at menopause in Latin America. *Menopause* 2006;13:706-12.
 - 4 Pinto-Neto AM, Paiva LHS, Fonsechi-Carvason GA. Epidemiologia do climatério. In: Fernandes CE, editor. *Menopausa: diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Segmento; 2003. p.21-30.
 - 5 Schilienger JL, Pradignac A. Relations entre poids et menopause. *Rev Fr Gynécol Obstét* 1993; 88:291-5.
 - 6 Malacara JM, Perez-Luque EL, Martinez-Garza S, Sanches-Marin FJ. The relationship of estrogen receptor-alpha polymorphism with symptoms and other characteristics in post-menopausal women. *Maturitas* 2004;15:49:163-9.
 - 7 Castelo-Branco C, Cancelo MJ, Villero J, Nohales F, Juliá MD, Management of post-menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis. *Maturitas* 2005;52:S46-S52.
 - 8 Grimaldo C. *Citologia do Trato Genital Feminino* 1993; cap.VI e VIII.
-

- 9 Lustosa AB, Girão MJBC, Sartori MGF, Baracat EC, Lima GR. Citologia Hormonal do Trato Urinário Baixo e da Vagina de mulheres na Pós-menopausa, antes e durante Estrogenioterapia Oral e Transdérmica. *Rev.Bras.Ginecol.Obstet.* 2002;9:vol24.
 - 10 NAMS (The North American Menopause Society). Recommendations for estrogen and progestogen use in peri- and postmenopausal women: October 2004 position statement of NAMS. *Menopause* 2004;11:589-600.
 - 11 Skouby SO, Al-Azzawi E, Barlow D, et al. Climateric Medicine: European Menopause and Andropause Society (EMAS) 2004/2005 position statements on peri- and postmenopausal hormone replacement therapy. *Maturitas* 2005;16:1-3.
 - 12 Nothnagle M, Taylor JS. Vaginal estrogen preparations for relief of atrophic vaginitis. *Cochrane for Clinicians: putting evidence into practice.* *AFP* 2004;69:1-4. <http://www.cochrane.org/cochrane/revabstr/AB001500.htm>.
 - 13 Heinemann C, Reid G. Vaginal microbial diversity among postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Can J Microbiol* 2005;51:777-81.
 - 14 Tristão A R. Estimativa da prevalência das infecções cervico-vaginais em primigestas normais. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.2000.
-

- 15 Notelovitz M, Funk S, Nanavati N, mazzeo M. Estradiol absorption from vaginal tablets in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 2002;99(4):556-62.
 - 16 Raymundo N, Yu-cheng B, Zi-yan H, et al. Treatment of atrophic vaginitis with topical conjugated equine estrogens in postmenopausal Asian women. *Climateric* 2004;7(3):312-8.
 - 17 Tan D, Haines CJ, Limpaphayom KK, Holinka CF, Ausmanas MK. Relief of vasomotor symptoms and vaginal atrophy with three doses of conjugated estrogens and medroxyprogesterone acetate in postmenopausal Asian women from 11 countries: The Pan-Asia menopause (PAM) study. *Maturitas* 2005;52(1):35-51.
 - 18 Manonai J, Chittacharoen A, Theppisai U. Effect of estradiol valerate and levonorgestrel on vaginal health. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;115(2):190-3.
 - 19 Palacios S, Castelo-Branco C, Cancelo MJ, Vazquez F. Low-dose, vaginally administered estrogens may enhance local benefits of systemic therapy in the treatment of urogenital atrophy in postmenopausal women on hormone therapy. *Maturitas* 2005;50(2):98-104.
 - 20 Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada- SOGC. The detection and management of vaginal atrophy. *Int J Gynaecol Obstet* 2005;88:222-8.
-

- 21 MacGregor JI, Jordan VC. Basic guide to the mechanisms of antiestrogen action. *Pharmacol Rev* 1998;50:151-96.
 - 22 Jensen EV, Jordan VC. The estrogen receptor: a model for molecular medicine. *Clin Cancer Res* 2003;9:1980-9.
 - 23 Anzano MA, Peer CW, Smith Jm, et al. Chemoprevention of mammary carcinogenesis in the rat: combined use of raloxifene and 9-cis-retinoic acid. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:123-5.
 - 24 Vogel VG, Constantino JP, Wickerham DL, et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes. The NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 Trial. *JAMA* 2006;295:2727-41.
 - 25 Cauley JA, Norton L, Lippman ME, et al. Continued breast cancer risk reduction in postmenopausal women treated with raloxifene: 4-year results from the MORE trial. *Breast Cancer* 2001;65:125-34.
 - 26 Martino S, Cauley JA, Barrett-Connor E, et al. For the CORE Investigators. Continuing outcomes relevant to Evista: breast cancer incidence in postmenopausal osteoporotic women in a randomized trial of raloxifene. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1751-61.
-

- 27 Neven P, Qualil D, Levrier M, et al. Uterine effects of estrogen plus progestin and raloxifene: adjudicated results from the EURALOX study. *Obstet Gynecol* 2004;103:881-91.
- 28 Davis AM, Ellersieck MR, Grimm KM, Rosenfeld CS. The effects of the selective estrogen receptor modulators, methyl-piperidino-pyrazole (MPP), and raloxifene in normal and cancerous endometrial cell lines and in the murine uterus. *Mol Reprod Dev* 2006;73:1034-44.
- 29 Garcia-Perez MA, Noguera R, del Val R, Noguera I, Hermenegildo C, Cano A. *Fertil Steril* 2006;86:1003-4.
- 30 Vardy MD, Lindsay R, Scotti RJ, et al. Short-term urogenital effects of raloxifene, tamoxifene and estrogen. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:81-8.
- 31 Albertazzi P, Sharma S. Urogenital effects of selective estrogen receptor modulators; a systematic review. *Climateric* 2005;8:214-20.
-



6 Anexas

6.1 Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu – S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde em 30 de
abril de 1997

Botucatu, 08 de novembro de 2.004

OF 534/2004-CEP
MACAH/asc

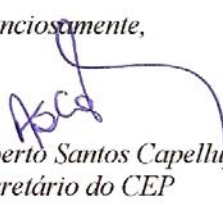
*Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Jorge Nahas Neto
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina de Botucatu*

Prezado Dr. Jorge

*De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa “**Efeito do raloxefeno no epitélio vaginal de mulheres na pós menopausa**”, de autoria de Armando Delmanto, sob sua orientação e Co-orientação da Profª Drª Eliana Aguiar Petri Nahas, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 08/11/2004.*

*Situação do projeto perante o CEP: **APROVADO**.*

Atenciosamente,


*Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP*

6.2 Anexo 2 – Características Clínicas do Grupo Controle

Participante	idade	tempo menopausa (anos)	idade da menopausa	Paridade	TRH (1=sim/ 2=não)	Fumo (1=não/ 2=sim)	IMC M0	IMC M1	P - M0	I - M0	S - M0	epit(1=at; 2=hipot; 3=trof)	Vm M0	P - M1	I - M1	S - M1	epit(1=atrof; 2=hipot; 3=trof)	VM M1
AICR	54	12	42	7	1	1	44.1	44.2	100	0	0	1	0	0	88	12	2	56
BFG	67	30	37	3	2	1	25.6	25.6	2	98	0	2	49	0	98	2	2	51
CHM	68	16	52	6	2	1	26.6	26.8	9	88	3	2	47	0	100	0	2	50
DSL	60	18	42	6	1	1	28.17	28.9	0	100	0	2	50	0	95	5	2	52.5
ESS	63	10	53	5	2	1	27.7	27.9	100	0	0	1	0	100	0	0	1	0
FCC	50	4	46	3	2	1	32	31.2	100	0	0	1	0	100	0	0	1	0
GNO	56	2	54	5	1	1	35.9	35.4	0	52	48	3	74	0	98	2	2	51
LFMA	66	17	49	4	2	1	32.3	32.7	100	0	0	1	0	100	0	0	1	0
LA	64	20	44	4	2	1	30.3	30.2	0	85	15	2	57.5	100	0	0	1	0
MAB	68	20	48	1	1	1	27.2	27.1	3	92	5	2	51	1	96	3	2	51
MACS	48	1	47	5	2	2	29.3	29.2	0	100	0	2	50	0	98	2	2	51
MAER	59	6	53	6	2	2	30.5	31.1	61	36	3	1	21	100	0	0	1	0
MAP	50	4	46	1	2	1	25.4	25.6	94	4	2	1	4	15	74	11	2	48
MCC	57	7	50	1	2	1	28.8	28.3	100	0	0	1	0	100	0	0	1	0
MJG	63	23	40	2	2	1	36.3	36.3	73	27	0	1	13.5	18	82	0	2	41
MLOP	53	3	50	3	2	2	33.8	33.7	0	93	7	2	53.5	0	98	2	2	51
MCG	54	5	49	3	2	1	23.8	24.2	0	98	2	2	51	0	98	2	2	51
MEM	56	12	44	2	1	1	21.5	21.1	100	0	0	1	0	0	94	6	2	53
MED	55	16	39	3	2	1	30.9	30.5	12	88	0	2	44	100	0	0	1	0
MMSS	54	3	51	2	2	1	34.8	35	100	0	0	1	0	0	100	0	2	50

Anexo 2 – Continuação

Participante	idade	tempo menopausa (anos)	idade da menopausa	Paridade	TRH (1=sim/ 2=não)	Fumo (1=não/ 2=sim)	IMC M0	IMC M1	P - M0	I - M0	S - M0	epit(1=at; 2=hipot; 3=trof)	Vm M0	P - M1	I - M1	S - M1	epit(1=atrof; 2=hipot; 3=trof)	VM M1
MNA	52	4	48	4	2	2	28	27.7	0	95	5	2	52.5	0	92	8	2	54
NAR	61	14	47	4	2	1	20.1	20	100	0	0	1	0	100	0	0	1	0
DPM	64	14	50	4	1	1	26.31	25.92	100	0	0	1	0	68	22	10	1	21
EJN	70	20	50	0	2	1	30.45	29.81	0	91	9	2	54.5	0	76	24	3	62
INB	65	15	50	2	1	2	30.43	30.82	0	100	0	2	50	0	88	12	2	56
LG	59	14	45	0	2	1	33.77	35.1	0	66	34	3	64	0	72	28	3	64
MEM	62	14	48	3	1	1	29.97	29.8	0	88	12	2	56	0	100	0	2	50
MAC	64	9	45	3	1	1	24.52	25.47	100	0	0	1	0	11	86	3	2	46
MAP	65	10	45	0	1	2	23.93	24.63	0	96	4	2	52	0	95	5	2	50
MDR	60	8	52	0	1	1	27.81	28.06	0	100	0	2	50	0	97	3	2	51.5
MJMN	70	20	50	2	2	1	34.33	34.19	0	94	6	2	53	0	93	7	2	52
MJVS	51	2	49	2	2	1	31.72	30.86	0	86	14	2	50	0	100	0	2	55.5
MJB	57	7	50	2	1	1	35.18	33.59	100	0	0	1	0	94	4	2	1	4
NAH	59	9	50	5	2	1	29.43	29.05	0	90	10	2	55	0	95	5	2	52.5
NTRV	62	10	52	1	1	1	21.81	22.49	0	100	0	2	50	0	97	3	2	51.5
OGBO	66	17	49	0	1	1	27.65	27.34	100	0	0	1	0	98	2	0	1	1
VC	69	20	49	5	1	1	25.35	25.77	0	98	2	2	51	3	96	1	2	49
WP	68	20	48	3	1	1	35.51	35.39	0	93	7	2	53.5	0	100	0	2	50
YMP	65	20	45	4	1	1	25.43	25.21	0	98	2	2	50	0	100	0	2	50
ZMC	60	11	49	6	2	1	25.91	27.55	98	2	0	1	1	58	36	2	1	20

6.3 Anexo 3 – Características Clínicas do Grupo Tratado (Ralixifeno)

Participante	nº paciente	idade	tempo menopausa (anos)	idade da menopausa	Paridade	TRH (sim=1 não=2)	Fumo (sim=1 não=2)	IMC M0	IMC M1	P	I	S	vm M0	epitélio M0	P	I	S	vm M1	epitélio M1
										M0	M0	M0		1=atrofia 2=hipotrofia 3=trofia	M1	M1	M1		1=atrofia 2=hipotrofia
AMCO	1	46	2	44	2	2	2	22.4	22.7	0	90	10	55	2	0	91	9	54.5	2
AMG	2	55	5	50	0	1	1	23.8	25	84	12	5	11	1	27	68	5	39	2
ATL	3	60	15	45	8	1	2	32	32	35	61	4	34.5	2	47	53	0	26.5	1
BFM	4	69	18	51	6	2	2	25.4	26.8	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
CO	5	61	21	40	3	1	2	20.7	20.3	100	0	0	0	1	2	89	9	53.5	2
DVP	6	74	26	48	3	1	2	25.9	25.7	83	17	0	8.5	1	100	0	0	0	1
DAR	7	51	2	49	5	2	2	31.8	32	0	87	13	65.5	3	0	98	2	51	2
EG	8	62	9	53	0	1	2	24.4	25.9	0	81	19	59.5	2	100	0	0	0	1
FRC	9	62	20	42	3	1	2	27.7	27.9	0	86	14	57	2	0	88	12	56	2
FMRS	10	64	19	45	2	2	2	33.8	36.1	17	82	1	42	2	0	95	0	47.5	2
IOV	11	65	10	55	5	1	1	23.2	23.6	0	97	3	51.5	2	0	100	0	50	2
IA	12	70	20	50	2	1	2	27.8	28.6	16	78	6	45	2	100	0	0	0	1
ICC	13	60	6	54	2	2	2	34.2	32.8	2	95	3	50.5	2	40	59	1	30.5	2
LO	14	47	0	47	0	2	2	20.5	21.6	100	0	0	0	1	96	2	2	3	1
LFO	15	64	22	42	8	2	2	25.6	26.5	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
MAB	16	57	7	50	2	1	2	24.7	23.9	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
MLFR	17	61	14	47	2	2	1	16	16	0	93	7	53.5	2	0	98	2	51	2
MLZL	18	60	20	40	2	2	2	21.6	22.3	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
MO	19	54	15	39	3	1	2	27.1	29.7	98	2	0	1	1	54	27	19	32.5	2
NLBP	20	59	8	51	4	2	2	27.99	26	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1

Anexo 3 – Continuação

Participante	nº paciente	idade	tempo menopausa (anos)	idade da menopausa	Paridade	TRH (sim=1 não=2)	Fumo (sim=1 não=2)	IMC M0	IMC M1	P	I	S	vm M0	epitélio M0	P	I	S	vm M1	epitélio M1
										M0	M0	M0		1=atrofia 2=hipotrofia 3=trofia	M1	M1	M1		1=atrofia 2=hipotrofia
PLJ	21	73	21	52	2	2	2	27.4	28	20	75	5	42.5	2	5	94	1	48	2
TGMR	22	68	20	48	2	1	2	24.2	25.3	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
GCK	23	72	18	54	5	1	2	30	30	100	0	0	0	1	88	9	3	7.5	1
LMM	24	73	23	50	4	2	2	24.7	24.7	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
LFF	25	64	12	52	5	2	2	25.2	25.2	2	97	1	49.5	2	0	100	0	50	2
TEF	26	61	3	58	3	1	2	22.2	22.2	26	54	0	27	1	92	8	0	4	1
AOS	27	73	18	55	5	1	2	22.7	22.7	0	98	1	50	2	0	98	2	51	2
HMVO	28	50	5	45	3	2	2	31.2	31	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
ATS	29	68	23	45	3	1	2	27.02	27.2	2	87	11	54.5	2	0	86	14	57	2
NZG	30	53	8	45	1	2	2	19.5	19.9	94	6	0	3	1	98	0	2	2	1
MLCS	31	57	7	50	2	2	2	32.02	32.5	0	100	0	50	2	0	100	0	50	2
GML	32	74	30	44	11	2	2	23.8	23.8	29	67	4	37.5	2	15	79	6	45.5	2
EL	33	56	23	33	3	2	2	20	20.7	0	93	7	53.5	2	0	100	0	50	2
IBZ	34	56	18	37	2	1	2	26.6	27.5	0	85	15	57.5	2	0	100	0	50	2
FLO	35	52	6	46	3	1	2	23.3	23.3	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
CVZ	36	57	8	49	1	1	1	22.9	22.9	0	96	4	52	2	0	98	2	51	2
LLO	37	59	9	50	0	2	1	24.08	24.08	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
MISS	38	58	16	42	7	2	2	19.7	19.7	0	94	6	53	2	0	98	2	51	2
NMJ	39	58	7	51	2	2	2	23.1	23.1	100	0	0	0	1	100	0	0	0	1
RKCC	40	54	1	53	3	2	2	20	20	0	97	3	51.5	2	0	81	19	59.5	2