

Marcelo Luis Steiner

Avaliação Comparativa da Eficácia da Terapia de Reposição Hormonal de Baixa Dose Isolada ou Associada à Sinvastatina no Perfil Lipídico e Lipoprotéico em Mulheres Sintomáticas e Dislipidêmicas na Pós-Menopausa.

Orientador – Prof. Dr. César Eduardo Fernandes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, área de concentração em Tocoginecologia, para obtenção do título de doutor.

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

UNESP

2011

Steiner, Marcelo Luis

Avaliação Comparativa da Eficácia da Terapia Hormonal de Baixa Dose Isolada ou Associada à Sinvastatina no Perfil Lipídico e Lipoprotéico em Mulheres Sintomáticas e Dislipidêmicas na Pós-Menopausa/Marcelo Luis Steiner. Botucatu: FMUNESP, 2011. 151f. : il. color.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da UNESP  
Orientador: Prof. Dr. César Eduardo Fernandes

1. Dislipidemias 2. Lipoproteínas 3. Sinvastatina 4. Terapia de Reposição Hormonal

WP580

## **DEDICATÓRIA**

À minha esposa Carolina, pelo amor e pelo apoio emocional, físico e intelectual, fundamentais para a elaboração deste trabalho. Obrigado por sempre estar ao meu lado – mais uma conquista nossa!

À minha filha Rafaela, pelo seu sorriso e alegria contagiantes, estímulos diários para minha vida.

À minha filha Isabela, que aguardamos com ansiedade.

À minha mãe Denise, pela sua dedicação infinita em me fazer feliz e por transmitir a sua paixão pela medicina. Combustíveis indispensáveis para minha caminhada.

Ao meu pai Jorge, pelo amor e pelo apoio indispensável na elaboração desta tese.

Aos meus irmãos, Tatiana e Gustavo, companheiros que carrego no meu coração.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao Prof. Dr. César Eduardo Fernandes, meu orientador e mestre, por colocar todo o seu empenho na realização deste trabalho. Obrigado pela paciência e pelo comprometimento de transmitir os melhores valores que devem orientar um pesquisador na vida da pesquisa e da ciência. Espero sempre poder retribuir e multiplicar os seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Luciano de Melo Pompei, pela ajuda incondicional em todas as etapas de elaboração desta tese. A sua capacidade científica, sua generosidade e extrema paciência foram fundamentais para a elaboração desse trabalho. Serei sempre grato pelos ensinamentos e contribuições para o meu desenvolvimento como médico e pesquisador.

## **AGRADECIMENTOS**

Às pacientes, sem dúvida as principais personagens deste estudo. Sem o seu comprometimento, nada seria possível.

Ao Dr. Rodolfo Strufaldi, chefe e “parceiro na vida acadêmica”, pela sua amizade e companheirismo sempre presentes.

Às minhas amigas Heloísidei Garbugio e Mirian Carvalho Ferreira Ramalho, fundamentais para execução deste trabalho. Muito obrigado!

Às funcionárias do ISBEM, Maria Angélica, Marília, Ana Carolina, Elenice e Mayumi, pelo apoio logístico na execução deste trabalho.

À Dra. Priscila Scaff Padilha, gerente médica da Biolab, pelo apoio irrestrito à realização deste estudo.

À Odaly Toffoletto, pelo auxílio na análise estatística.

À Dra. Eliana Petri Nahas, por ser uma parceira dentro do Programa de Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia pelos ensinamentos.

À Secretária da Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia Ana Cláudia Mira, por solucionar sempre, de forma prestativa e competente, todas as minhas dúvidas.

Aos Funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu pela atenção e cooperação.

À Equipe da Ginecologia Endócrina, Planejamento Familiar e Climatério da Faculdade de Medicina do ABC, pelo apoio e incentivo.

A todas as pessoas que de alguma forma estiveram envolvidas na realização deste trabalho.

## LISTA DE TABELAS

### Artigo 1

- Tabela 1 Características clínicas e laboratoriais basais dos grupos de tratamento. \_\_\_\_\_ 59
- Tabela 2 Comportamento do perfil lipídico e lipoprotéico e dos marcadores cardiovasculares laboratoriais na visita basal e final. \_\_\_\_\_ 60
- Tabela 3 Comparação das variações do perfil lipídico e lipoprotéico e dos marcadores cardiovasculares entre os grupos de tratamento. \_\_\_ 61

### Artigo 2

- Table 1 Baseline clinical and laboratory characteristics of the three treatment groups. \_\_\_\_\_ 87
- Table 2 Lipid profile and laboratory cardiovascular risk markers at baseline and final visit. \_\_\_\_\_ 88
- Table 3 Comparison of the variations in lipid profiles and cardiovascular risk markers between the groups. \_\_\_\_\_ 89

## LISTA DE FIGURAS

### Artigo 1

- Figura 1 Diagrama da Triagem e Randomização do Estudo. \_\_\_\_\_ 58
- Gráfico 1 Variações final vs. Basal de CT, HDL, colesterol não-HDL, Apo-B, Apo-A1 e relação Apo-B/Apo-A1 para cada grupo de tratamento. \_\_\_\_\_ 62
- Gráfico 2 Evolução do Índice de Kupperman ao longo do estudo nos diferentes grupos. \_\_\_\_\_ 63

### Artigo 2

- Figure 1 Flowchart of patients in the study. \_\_\_\_\_ 84
- Figure 2 Final versus baseline variations in TC, HDL-C, non-HDL cholesterol, Apo-B, Apo-A1 and Apo-B/Apo-A1 ratio for each treatment group. \_\_\_\_\_ 85
- Figure 3 Evaluation of the KI throughout the study in the different groups. \_\_\_\_\_ 86

## LISTA DE ABREVIATURAS

E2/NETA – Estradiol/Norestisterona

HT – *Hormone Therapy*

CT – Colesterol Total

LDL-C – *Low Density Lipoprotein* Colesterol

HDL-C – *High Density Lipoprotein* Colesterol

VLDL-C – *Very Low Density Lipoprotein* Colesterol

TG – Triglicerídeo

APO-B – Apolipoproteína B

APO-A1 – Apolipoproteína A1

TRH – Terapia de Reposição Hormonal

DCV – Doença Cardiovascular

EUA – Estados Unidos da América

IAM – Infarto Agudo do Miocárdio

AVC – Acidente Vascular Cerebral

ARIC – *Atherosclerosis Risk in Communities Cohort*

HERS – *Hormone and Estrogen Replacement Study*

WHI – *Women's Health Initiative*

EEC – Estrogênio Equino Conjugado

AMP – Acetato de Medroxiprogesterona

SWAN – *Study of Women's Health Across the Nation*

RE – Receptor de Estrogênio

GPER - Receptor de Estrogênio Proteína G acoplado

ECA – Enzima Conversora de Angiotensina

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

EPAT – *Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis*

WELL-HART – *Women's Estrogen-Progestin Lipid-Lowering Hormone  
Atherosclerosis Regression Trial*

IL-6 – Interleucina-6

TNF- $\alpha$  – Fator- $\alpha$  de necrose tumoral

ICAM-1 – *Inter-Cellular Adhesion Molecule 1*

VICAM-1 – *Vascular Cell Adhesion Protein 1*

E-selectin – *Endothelial-leukocyte Adhesion Molecule 1*

NHANES – *US National Health and Nutrition Examination Surveys*

DCC – Doença Cardíaca Coronariana

NCEP – *National Cholesterol Education Program*

ATP III – Adult Treatment Panel III

RNA – *Ribonucleic acid*

HMGCoA – 3 Hidroxi-3 MetilGlutaril-Coenzima A

CARE – *Cholesterol and Recurrent Events*

LIPID – *Long-Term Intervention with Provastatin in Ischemic Disease*

ALT – Alanina Amino Transferase

AST – Aspartato Amino Transferase

IMC – Índice de Massa Corpórea

TSH – Hormônio Estimulante da Tireóide

Estudo 4S – *Scandinavian Simvastatin Survival Study*

# ÍNDICE

IMAGENS

ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Sintomas Climatéricos e Terapia Hormonal	20
1.2. Estrogênio e o Sistema Cardiovascular	22
1.3. Lipídeos e Terapia Hormonal	26
2. OBJETIVO	35
3. ARTIGO	
3.1. Avaliação comparativa da eficácia da terapia hormonal isolada ou associada à sinvastatina no perfil lipídico e risco cardiovascular em mulheres menopausadas e com dislipidemia	36
3.2. Low-dose hormone therapy with or without simvastatin in dyslipidemic menopausal women: a randomized trial	64
4. CONCLUSÕES	90
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

## 6. ANEXOS

A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa _____	101
B – Lista de Randomização _____	104
C – Submissão à “Climacteric” _____	108

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar comparativamente a eficácia da terapêutica de reposição hormonal (TRH) de baixa dose isolada ou associada à sinvastatina no comportamento de marcadores de risco cardiovasculares e do perfil lipídico e lipoprotéico em mulheres sintomáticas e com dislipidemia na pós-menopausa.

**Métodos:** Duzentas e quarenta e duas mulheres na pós-menopausa, sintomáticas e com dislipidemia foram randomizadas em três grupos de tratamento: A) estradiol (E2) 1mg/acetato de noretisterona (NETA) 0,5mg [E2/NETA] + sinvastatina 20mg; B) E2/NETA + placebo; e C) sinvastatina 20mg + placebo. A eficácia de cada tratamento foi avaliada pela melhora do perfil lipídico e lipoprotéico e dos sintomas climatéricos ao final de 16 semanas de tratamento.

**Resultados:** O colesterol total, o LDL-C, o colesterol não-HDL e a Apo B diminuíram de forma significativa ( $p < 0,0001$ ) ao final de 16 semanas no grupo que utilizou E2/NETA + sinvastatina e naquele tratado com sinvastatina + placebo. A relação Apo B/Apo A1 também apresentou redução significativa nestes dois grupos ( $p < 0,0001$  e  $p = 0,0026$  respectivamente). A Apo A1 diminuiu apenas no grupo que recebeu E2/NETA + sinvastatina ( $p = 0,0055$ ). O grupo E2/NETA + placebo não apresentou alterações significativas no perfil lipídico e lipoprotéico entre as visitas basal e final. Aquele que utilizou E2/NETA + sinvastatina apresentou redução significativa do HDL-C e da Apo A1 quando comparado às usuárias de sinvastatina + placebo ( $p = 0,0233$  e  $p = 0,0231$  respectivamente). No alívio dos sintomas climatéricos, os grupos que utilizaram E2/NETA foram superiores a sinvastatina + placebo.

**Conclusão:** Em mulheres na pós-menopausa com dislipidemia, a associação de E2/NETA em baixa dose com sinvastatina aliviou os sintomas climatéricos de forma semelhante à observada com a E2/NETA isolada e melhorou o perfil lipídico e lipoprotéico de modo semelhante ao uso isolado da sinvastatina. O uso de E2/NETA sem sinvastatina diminuiu os sintomas climatéricos, mas não melhorou a dislipidemia.

**Palavras Chaves:** Dislipidemia; Lipoproteínas; Sinvastatina; Terapia de Reposição Hormonal.

## ABSTRACT

**Objectives:** To evaluate low-dose hormone therapy (HT) + simvastatin for vasomotor symptoms and cardiovascular risk markers.

**Study design:** Symptomatic postmenopausal women (n=242) with dyslipidemia were randomized to one of three treatment groups: A) 1mg estradiol/0.5mg norethisterone acetate (E2/NETA) + 20mg simvastatin; B) E2/NETA + placebo; or C) 20mg simvastatin + placebo. Lipid and lipoprotein profiles and menopausal symptoms were evaluated after 16 weeks.

**Results:** Total cholesterol, LDL cholesterol, non-HDL cholesterol and Apo-B decreased ( $p < 0.0001$ ) in groups A and C, as did Apo-B/Apo-A1 ( $p < 0.0001$  and  $p = 0.0026$ , respectively). Apo-A1 decreased only in group A ( $p = 0.0055$ ). HDL cholesterol and Apo-A1 were lower in A than C ( $p = 0.0233$  and  $p = 0.0231$ , respectively). Relief of menopausal symptoms was better in A and B compared to C.

**Conclusion:** HT + simvastatin were effective for the treatment of symptomatic postmenopausal women and improved the lipid profile similar to simvastatin alone. It also delivered an improvement in the simultaneous treatment of menopausal symptoms and dyslipidemia

**Keywords:** Dyslipidemia, Hormone Replacement Therapy, Lipoproteins, Simvastatin.

## 1. INTRODUÇÃO

A parada da produção estrogênica, vivenciada pelas mulheres na peri e pós-menopausa, pode determinar o aparecimento de diversos sintomas e mudanças orgânicas que causam impactos na sua saúde e qualidade de vida. Podemos citar os sintomas vasomotores, a labilidade emocional, as mudanças na silhueta corpórea, atrofia do trato geniturinário e, em longo prazo, diminuição da massa óssea e aumento do risco cardiovascular.<sup>1</sup>

Dentre os sintomas climatéricos, o aumento do risco cardiovascular recebe atenção especial na literatura médica. Isso se deve principalmente pela morbimortalidade relacionada às doenças cardiovasculares (DCV) nesta fase da vida feminina.

A DCV na mulher está entre os principais problemas de saúde pública dos Estados Unidos da América (EUA).<sup>2</sup> Desde 1984 morrem mais mulheres do que homens por esta doença<sup>3</sup> e um terço da população feminina daquele país possui alguma forma de acometimento cardiovascular. Para fins comparativos, uma em cada 2,7 mulheres morre por DCV nos EUA, enquanto a mortalidade por câncer é de uma em 4,6.<sup>4</sup>

No Brasil, a situação não é diferente e as principais causas de morte em mulheres acima de 50 anos são o infarto agudo do miocárdio (IAM) e o acidente vascular cerebral (AVC).<sup>5</sup>

Segundo dados do Ministério da Saúde brasileiro, no ano de 2002, as mortes por doenças do aparelho circulatório (incluídas as DCV), foram as

principais causas de morte em mulheres, chegando a 36,4% do total. Para fins comparativos, as doenças neoplásicas, segunda causa de morte, contabilizaram 17,1% dos casos. Além disso, das mortes relacionadas ao aparelho circulatório, mais de 90% acometeram mulheres acima dos 45 anos, ou seja, a sua maioria estava no período peri ou pós-menopáusicas. <sup>6</sup>

A incidência de eventos cardiovasculares na mulher aumenta com a idade. O estudo *Atherosclerosis Risk in Communities Cohort* (ARIC) demonstrou que as taxas do primeiro evento cardiovascular são 1,4; 3,3; 6,9 e 10,7 por 1000 mulheres para os grupos etários 45 a 54, 55 a 64, 65 a 74 e 75 a 84, respectivamente. Já para os homens nos respectivos grupos etários, essas taxas são 2,8; 5,4; 10,5 e 14,4 por 1000 homens. <sup>7</sup> Esses números mostram ainda que o risco de evento cardiovascular feminino equivale ao masculino com atraso de uma década, ou seja, o risco das mulheres entre 55 a 64 anos aproxima-se ao dos homens com 45 a 54 anos e assim sucessivamente.

Dentre as explicações para o descompasso de uma década na taxa do primeiro evento cardiovascular masculino e feminino, há um provável efeito protetor relacionado ao estrogênio.

A proteção cardiovascular atribuída ao estrogênio pode ser endossada por estudo observacional prospectivo que demonstrou que mulheres na pós-menopausa possuem maior risco cardiovascular quando comparadas com aquelas da mesma idade e com função menstrual preservada. <sup>8</sup> Outro estudo fortalece esta hipótese ao mostrar que mulheres com menopausa precoce por ooforectomia bilateral possuem risco 2,2 vezes maior de evento cardiovascular em relação as mulheres com a mesma idade no menacme. <sup>9</sup>

Na própria avaliação dos dados do estudo ARIC, citado anteriormente, observa-se que o tempo de menopausa está relacionado ao aumento de risco cardiovascular. De acordo com este estudo, a taxa de risco de evento cardiovascular feminino entre 45 a 54 anos, ou seja, na perimenopausa, é a metade do risco masculino (1,4 X 2,8). Entretanto, na idade entre 75 a 84, na pós-menopausa tardia, a taxa feminina fica superior a dois terços da masculina (10,7 X 14,4).

A constatação, na qual mulheres no menacme possuem menor morbidade e mortalidade cardiovascular em comparação aos homens da mesma idade e mulheres na pós-menopausa,<sup>10</sup> e ainda, que a doença cardiovascular aumenta com a idade alcançando incidência semelhante à masculina com um “atraso” de 10 anos,<sup>11</sup> sustentam que o estrogênio desempenha um papel protetor em relação à DCV nas mulheres.

Todavia, não existe consenso quanto ao real impacto e à fisiopatologia do hipoestrogenismo no risco cardiovascular. Decorrente disso há dúvidas sobre quais os benefícios ou consequências de uma abordagem terapêutica com reposição hormonal no desenvolvimento da doença cardiovascular (DCV) em mulheres na pós-menopausa e com sintomas climatéricos.

Os primeiros estudos observacionais relacionados a este assunto mostraram haver benefício com a reposição estrogênica na proteção cardiovascular em mulheres na pós-menopausa.<sup>12,13</sup> Alguns propuseram inclusive que o benefício do uso da terapia estrogênica seria igual, ou até superior, em mulheres com doença cardíaca prévia comparadas às mulheres saudáveis.<sup>13,14</sup>

Baseando-se nestes estudos, a terapia de reposição hormonal chegou a ser prescrita, mesmo não contendo esta indicação em bula, para prevenção primária e secundária da doença cardiovascular.<sup>15</sup>

O Estudo das Enfermeiras (*Nurse's Health Study*), que acompanhou, por 16 anos, 48.470 mulheres na pós-menopausa entre 30 e 55 anos, demonstrou redução de eventos cardiovasculares nas mulheres usuárias de terapia de reposição hormonal em relação às não-usuárias (risco relativo de 0,39).<sup>16</sup>

De maneira distinta, no final da década de 90, o estudo clínico *Hormone and Estrogen Replacement Study* (HERS), que incluiu 2.763 mulheres com DCV prévia objetivando avaliar o uso da TRH para prevenção secundária de DCV, não demonstrou benefício. Nele, após 4,1 anos de acompanhamento, verificou-se aumento de 52% no número de eventos cardiovasculares nas usuárias de TRH em relação ao grupo placebo. Este risco ocorreu de forma preponderante no primeiro ano de uso da reposição hormonal. Nos demais anos não ocorreu diferença estatística em relação aos eventos cardiovasculares entre o grupo utilizando placebo e as usuárias de TRH. Baseado nos resultados desse estudo, o uso da TRH para prevenção secundária de DCV foi questionado.<sup>17</sup>

No início deste século foram publicados os resultados do *Women's Health Initiative* (WHI), primeiro grande estudo clínico, randomizado, placebo controlado, com objetivo primário de avaliar a TRH na doença cardiovascular em mulheres na pós-menopausa saudáveis. Nele, foram incluídas mais de 27.000 mulheres entre 50 e 70 anos, que se dividiram em dois grandes grupos. O primeiro grupo incluiu 16.608 mulheres com útero que utilizaram por via oral

0,625 miligramas por dia (mg/dia) de Estrogênios Equinos Conjugados (EEC) associado a 2,5 mg/dia de Acetato de Medroxiprogesterona (AMP) ou placebo. Já no segundo, foram incluídas 10.739 mulheres histerectomizadas que fizeram uso de 0,625 mg/dia de EEC ou placebo.<sup>18</sup>

O acompanhamento do grupo usando terapia estroprogestativa foi interrompido com 5,2 anos, ou seja, 3 anos antes dos 8,5 anos previstos, pois a incidência de câncer de mama ultrapassou os limites estabelecidos pelo comitê de segurança e monitoramento do estudo.

Além do risco de câncer mamário, os resultados mostraram um número significativo de eventos cardiovasculares. As usuárias de TRH mostraram possuir um risco relativo de 1,29 (IC 95%, 1,02 – 1,63%) para doenças coronarianas, 1,41 (IC 95%, 1,07 - 1,85%) para acidente vascular cerebral, 2,13 (IC 95%, 1,39 – 3,25%) para embolia pulmonar e 1,22 (IC, 1,09 – 1,36%) para qualquer desfecho por doença cardiovascular.<sup>18</sup> Estes resultados contestaram o provável efeito benéfico da TRH na proteção cardiovascular encontrada nos estudos observacionais.

No primeiro momento, a justificativa para a discrepância entre os resultados dos ensaios clínicos e dos estudos observacionais foi a de que estes últimos apresentavam erros metodológicos na sua concepção. Avaliou-se que apresentavam vieses de seleção, falha na identificação de eventos cardiovasculares, variação nos regimes hormonais, no tempo de menopausa e no estágio da aterosclerose.<sup>19, 20</sup>

Ocorre que, após avaliações secundárias, o estudo WHI, principal evidência clínica desfavorável aos benefícios da TRH na prevenção de

doenças cardiovasculares, não ficou isento de críticas em sua metodologia. Questionou-se que nele foi avaliado um único tipo de associação medicamentosa (EEC+AMP), utilizando uma via específica de administração (oral) e, assim, seus resultados não poderiam ser extrapolados para outros tipos, dosagens e vias de tratamento. Além disso, no estudo, 66,6% das participantes encontravam-se acima dos 60 anos e apenas 33% estavam a menos de 10 anos da menopausa, ou seja, a população do estudo foi constituída de pacientes idosas e com um bom tempo sob os efeitos deletérios cardiovasculares do hipoestrogenismo.<sup>18</sup>

Avaliação posterior do banco de dados do WHI mostrou ainda que mulheres com 20 ou mais anos de menopausa possuíam maior risco de doença cardiovascular associado a TRH em relação àquelas entre 10 e 19 anos e àquelas com menos de 10 anos, com risco relativo de 1,28; 1,10 e 0,76 (p=0,02; IC 95%) respectivamente. Além disso, a doença coronariana e o risco total de mortalidade estavam diminuídos em mulheres de 50 a 59 anos.<sup>21</sup> Esses dados vão ao encontro dos resultados encontrados nos estudos observacionais e demonstram maior benefício da TRH ao iniciá-la o mais próximo possível da menopausa.

De qualquer modo, o uso de TRH para tratamento e prevenção de eventos cardiovasculares foi abolido. De maneira oposta, ela continua tendo indicação precisa para os sintomas associados ao hipoestrogenismo.<sup>22</sup>

## 1. 1. SINTOMAS CLIMATÉRICOS E TERAPIA HORMONAL

A insuficiência ovariana pode ser sintomática e desconfortável para as mulheres. Acima de 60% das mulheres no período de transição menopausal apresentam algum tipo de sintoma relacionado à diminuição sérica do estrogênio.<sup>1</sup>

Segundo estudo que avaliou 16.065 mulheres entre 40-55 anos, 32% das mulheres relataram fogachos e suores noturnos que interferiram negativamente na sua qualidade de vida.<sup>23</sup> Estudo avaliando grupo de mulheres brasileiras encontrou sintomas vasomotores em 60% delas.<sup>24</sup>

O acompanhamento dos sintomas climatéricos de 438 mulheres na peri e pós-menopausa durante sete anos mostrou que 47% apresentaram secura vaginal após três anos de menopausa. A secura vaginal associa-se a sintomas urogenitais e a queixas sexuais como a dispareunia.<sup>25</sup>

O tratamento dos sintomas climatéricos costuma ser imperativo nas mulheres sintomáticas visando alívio dos mesmos e o resgate da qualidade de vida.

Ressalta-se que a terapia hormonal, independente da via de administração, é a modalidade de tratamento mais eficaz para os sintomas climatéricos. Todos os estudos clínicos comparando diferentes doses e vias dessa terapia apontam que elas foram superiores ao uso do placebo para melhora do tratamento de sintomas vasomotores e das conseqüências da atrofia urogenital.<sup>26,27</sup>

Dessa forma, a TRH é indicada para tratamento de mulheres com sintomas climatéricos. Porém, após a publicação do WHI e objetivando diminuir os eventos adversos de seu uso, orienta-se usar a menor dose terapêutica, ou seja, a menor dose capaz de aliviar os sintomas e iniciá-la o mais próximo possível da menopausa.

## **1.2. ESTROGÊNIOS E O SISTEMA CARDIOVASCULAR**

A despeito das divergências do impacto da TRH na doença cardiovascular, vale ressaltar que os estrogênios desempenham diferentes ações no sistema cardiovascular. Estas ações possuem efeitos metabólicos e hemodinâmicos que podem alterar o risco de DCV.

A mulher na pós-menopausa sofre alterações na sua composição corporal, principalmente o acúmulo de gordura no tecido adiposo visceral abdominal. Especula-se que o hipoestrogenismo esteja envolvido nesta remodelação, já que os estrogênios participam da regulação do metabolismo calórico e da distribuição de gordura.<sup>28,29</sup>

A participação dos estrogênios no metabolismo calórico foi observada em estudos experimentais. Trabalho com ratas ooforectomizadas demonstrou que o uso de estradiol atenuava o ganho de peso daquelas submetidas à dieta

hipercalórica.<sup>30</sup> Outro estudo observou que a deleção do gene do receptor de estrogênio proteína G acoplado (GPER) leva à obesidade visceral central.<sup>31</sup> Esta gordura central aumenta os riscos relacionados ao perfil lipídico, ao metabolismo glicêmico e a pressão arterial.

O aumento da circunferência abdominal associa-se ao aumento da resistência à insulina, à elevação do triglicérido (TG) e da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e ao aumento da pressão arterial.<sup>32-35</sup> Estudo prospectivo que acompanhou mulheres pós-menopausadas por pelo menos 15 anos demonstrou que as usuárias de TRH possuíam menor quantidade de gordura abdominal e assim, uma menor suscetibilidade a desenvolver resistência à insulina.<sup>33</sup>

O hipoestrogenismo associa-se ainda ao declínio progressivo da secreção de insulina estimulada pela glicose, à diminuição da sensibilidade insulínica e ao aumento da resistência insulínica. Essas alterações favorecem o desenvolvimento do *diabetes mellitus*, doença com grande impacto no risco cardiovascular.<sup>32</sup>

Mulheres no menacme costumam ter níveis pressóricos menores que os homens. Porém, esta relação muda após a menopausa, sugerindo um impacto do “*status* hormonal” associado ao fator idade.

A explicação para o incremento dos níveis pressóricos baseia-se no fato dos estrogênios possuírem efeitos vasodilatadores via endotélio vascular, diminuindo o risco de hipertensão arterial sistêmica (HAS). Além disso, constatou-se que nas mulheres jovens o ovário é a maior fonte extrarrenal de pró-renina e angiotensina II. Por outro lado, na mulher na pós-menopausa, a

diminuição do estradiol está associada ao aumento da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) e à maior sensibilidade ao sal, o que determina aumento nos níveis pressóricos.<sup>36</sup> A hipertensão arterial sistêmica colabora para o risco cardiovascular.

A influência do estrogênio na proteção cardiovascular também ocorre de forma direta na parede dos vasos. O estrogênio age de forma genômica (clássica) e não genômica através de seus receptores (ER), afetando a função cardíaca, o funcionamento do endotélio e do tônus vascular.<sup>37</sup>

Vale citar que existem duas formas principais de ER, o ER $\alpha$  e o ER $\beta$  e que ambos estão distribuídos pelos tecidos do corpo. Eles são codificados pelos genes ESR1 e ESR2 respectivamente, que estão localizados em diferentes locais do cromossomo. O estímulo desses receptores, tanto em tecidos saudáveis como doentes, gera inúmeras transcrições do RNA mensageiro e com isso diferentes expressões protéicas. O mecanismo que define as variadas transcrições ao estímulo do receptor e qual o seu papel na função no tecido saudável e doente precisam ser elucidados.<sup>37-39</sup>

O conhecimento completo desta fisiologia poderá esclarecer pontos conflitantes do comportamento do estrogênio endógeno e exógeno na gênese da doença cardiovascular.

Sabe-se, conforme observação de estudos experimentais, que o estrogênio regula a produção do óxido nítrico na parede vascular normalmente mediado pelo ER $\alpha$ . O óxido nítrico é um mediador envolvido na função vascular por seus efeitos vasodilatadores e propriedades antitrombóticas.<sup>39, 40</sup> Além disso, parece haver a participação destes receptores no processo

aterosclerótico. Os níveis reduzidos de ER $\alpha$  na coronária associam-se ao desenvolvimento de doença coronariana em mulheres.<sup>40</sup>

Estudos observacionais demonstram que os estrogênios não permitem o desenvolvimento de aterosclerose em coronária com processo aterosclerótico inicial, sendo, portanto, cardioprotetor. Porém, em artéria coronariana comprometida por aterosclerose avançada, os estrogênios podem ter ação desestabilizadora da placa aterosclerótica e estimulam fatores pró-inflamatórios, favorecendo a ruptura da placa e trombose.<sup>41-43</sup>

O ensaio clínico *Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis* (EPAT), desenvolvido para avaliar os efeitos dos estrogênios na progressão subclínica da aterosclerose em mulheres saudáveis menopausadas, concluiu que a evolução da aterosclerose foi menor nas usuárias de estrogênio em relação às usuárias de placebo.<sup>42</sup>

De forma conflitante, o *Women's Estrogen-Progestin Lipid-Lowering Hormone Atherosclerosis Regression Trial* (WELL-HART)<sup>44</sup>, estudo com metodologia e objetivos semelhantes ao citado anteriormente, não demonstrou diferença entre o grupo tratado com TRH e o grupo placebo em relação à evolução da aterosclerose na íntima do vaso. Análise crítica entre os dois estudos demonstra diferenças nas participantes do estudo: aquelas do WELL-HART possuíam doença aterosclerótica estabelecida (estenose superior a 30%) e cinco anos a mais de tempo de menopausa. Ou seja, o comprometimento arterial aterosclerótico nestas pacientes deveria estar em estágio mais avançado.<sup>42</sup>

Estudos experimentais endossam a possibilidade de proteção do estrogênio no processo aterosclerótico do vaso saudável. Demonstram que esta proteção parece se basear no fato de que, no início do processo aterosclerótico ocorrido no endotélio vascular, o estrogênio inibe a expressão de mediadores pró-inflamatórios como Interleucina-6 (IL-6) e fator- $\alpha$  de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e moléculas de adesão (ICAM-1, VICAM-1, e E-selectin). Inibe a ativação, a infiltração e o acúmulo de leucócitos na íntima do vaso, a expressão dos fatores de crescimento e o remodelamento pelas metaloproteinases.<sup>38,39</sup>

Observa-se, pelo exposto, que a utilização de terapia de reposição estrogênica parece oferecer proteção cardiovascular, ainda que não se tenha observado o seu efeito benéfico quanto a este aspecto nos estudos clínicos controlados.

### **1.3. LIPÍDEOS E TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL**

Na pós-menopausa, há uma propensão da mulher assumir um fenótipo aterosclerótico, com diminuição dos níveis plasmáticos da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e aumento do LDL-C (principalmente das partículas pequenas e densas) e do colesterol total (CT).<sup>45</sup> A *US National Health and Nutrition Examination Surveys* (NHANES) mostrou que o nível plasmático do

LDL-C está duas vezes mais aumentado na população de 55 a 64 anos em relação às de 45 a 54 anos e quatro vezes em relação às com idade inferior a 45 anos.<sup>46,47</sup> Esse aumento também ocorre em mulheres mais jovens que passaram por ooforectomia bilateral, mostrando relação do tipo causa-efeito decorrente da diminuição dos níveis plasmáticos de estrogênio.<sup>46</sup>

Estudos demonstram que as alterações do perfil lipídico e lipoprotéico possuem relação direta com o *status* menopausal e com o nível sérico de estrogênio.<sup>46-49</sup>

De acordo com avaliação do banco de dados de 2.659 mulheres avaliadas no *Study of Women's Health Across the Nation* (SWAN), de 1994 a 2004, o aumento dos níveis plasmáticos do colesterol total, do LDL-C e dos triglicerídeos foi estatisticamente significativo do período da transição menopausal inicial até a pós-menopausa.<sup>48</sup> Comparadas com mulheres no menacme, aquelas que se encontravam no período inicial da pós-menopausa possuem risco duas vezes maior de apresentar níveis sanguíneos de LDL-C superiores a 130 miligramas por decilitro (mg/dl). De forma lógica e compatível com o status menopausal, aquelas com maior nível sérico de estradiol apresentaram o melhor perfil lipídico.<sup>49</sup>

A mudança do perfil lipídico e lipoprotéico acarreta aumento da incidência de doenças cardiovasculares neste período por haver grande associação entre dislipidemia e DCC.<sup>50-55</sup>

Os lipídeos e lipoproteínas, principalmente o LDL-C, contribuem para a formação da placa de ateroma. O nível sérico elevado do LDL-C pode induzir a aderência de monócitos no endotélio. Estudo prospectivo demonstrou que

mulheres com colesterol total maior que 265 mg/dl têm três vezes mais chance de apresentar doença cardíaca coronariana (DCC) em relação àquelas com colesterol total normal.<sup>51-53</sup> Por outro lado, a diminuição do HDL-C em 10 mg/dl aumenta a chance de DCC em 40% a 50%.<sup>51-53</sup> A diminuição desta partícula de colesterol é tão impactante que ela tornou-se poderoso preditor de mortalidade cardiovascular em mulheres menopausadas.<sup>56</sup>

Comprovando a relação de perfil lipídico e lipoprotéico com o risco cardiovascular, o clássico *Framingham Heart Study*, que classifica o risco de “morte ou de apresentar um evento coronariano nos próximos 10 anos” inclui, nos seus fatores de risco, os níveis plasmáticos de colesterol total e de HDL.<sup>53</sup> Além disso, níveis sanguíneos de TG de 150 mg/dl ou mais e HDL-C de 50 mg/dl ou menos são componentes da dislipidemia que caracteriza a síndrome metabólica que, segundo o *National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III*<sup>54</sup>, apresenta grande impacto na incidência de doença cardiovascular, especialmente aquelas na fase de menopausa.

Da mesma forma que o aumento do colesterol total e sua fração LDL-C aumentam o risco de DCC, o oposto é verdadeiro. Segundo estudo realizado na Escandinávia, cada 1% de redução do LDL-C reduz o risco de evento cardíaco coronariano em 1,7%.<sup>57</sup> O *Lipid Research Clinics Program* verificou que a redução de 10,4% nos níveis plasmáticos de LDL-C levou à diminuição de 16% a 19% no risco de desenvolver coronariopatias e que para cada elevação de 10 mg/dl do HDL-C há diminuição de 42% no risco cardiovascular.

Dentre as ações benéficas comprovadas dos estrogênios sobre o perfil lipídico e lipoprotéico, está a redução da lipase hepática. Esta enzima tem como função degradar a HDL. Assim, esse hormônio permite o aumento do HDL-C e da apolipoproteína A-1 estimulando dessa forma o transporte reverso do colesterol.<sup>59</sup> Esses efeitos melhoram o perfil lipídico e principalmente o HDL-C.

Na mulher menopausada, o hipoestrogenismo leva ao aumento do LDL-C, da VLDL e do triglicérido. O aumento do LDL-C deve-se ao evento de “*downregulation*” de seus receptores hepáticos. A hipertrigliceridemia ocorre pela diminuição de seu “*clearance*”.<sup>60-62</sup>

O impacto benéfico dos estrogênios sobre o perfil lipídico e lipoprotéico é considerado uma das justificativas para a menor prevalência de doenças cardiovasculares em mulheres no menacme.<sup>63</sup>

A terapêutica de reposição hormonal também promove efeitos benéficos no perfil lipídico.<sup>64-68</sup> O próprio WHI, em que pese seus resultados negativos no desfecho de doença cardiovascular, mostrou melhora do perfil lipídico e lipoprotéico das usuárias de TRH. Esse efeito normalmente vem associado a um pequeno aumento no TG e sofre influência da dose e via de administração empregada, assim como do tipo de progestagênio associado.<sup>65,66,69</sup>

A estrogênio terapia tanto por via oral como transdérmica eleva os níveis de HDL-C, principalmente a fração HDL2-C. Isto é decorrente do bloqueio da atividade da enzima lipase hepática que converte HDL2-C em HDL3-C.<sup>70</sup> O HDL2-C é a fração do HDL-C que mais protege contra o desenvolvimento de aterosclerose.

Ambas as vias diminuem os níveis séricos da LDL-C pelo aumento do número de receptores hepáticos para esta lipoproteína, que passa a ser metabolizada em maior velocidade.<sup>18,50,63</sup> Os estrogênios por via oral podem agir elevando de 20% a 25% os níveis de triglicerídeos e de VLDL, provavelmente por estimular a expressão do RNA mensageiro da apolipoproteína B (ApoB) hepática.<sup>63,71,72</sup> Há estudos que não demonstram a elevação de TG, principalmente nas doses mais baixas de estrogênio.<sup>73,74</sup> Já com a via transdérmica, apesar desta ser menos potente em relação à elevação da HDL-C e à diminuição da LDL-C, o aumento do TG não ocorre, podendo até diminuir, por mecanismos ainda pouco compreendidos.<sup>75</sup>

A suposta capacidade antioxidante do estrogênio também é valorizada como efeito benéfico deste hormônio. Entretanto, seu efeito na diminuição da suscetibilidade de oxidação da LDL-C e HDL-C permanece controverso. Estudos confirmam o poder antioxidante do estrogênio *in vitro*.<sup>63,72</sup> Ensaios clínicos também demonstram a proteção do estrogênio em relação à oxidação.<sup>76-78</sup> De forma contrária, há estudos clínicos que não observaram ação antioxidante do estrogênio e sugerem que ele pode diminuir partículas da LDL-C, deixando-as mais suscetíveis à oxidação.<sup>79-82</sup>

A adição de progestagênio ao esquema de reposição estrogênica leva à diminuição da HDL-C, principalmente da HDL2-C, e dos níveis de triglicerídeos. Os progestagênios parecem diminuir a produção de VLDL e aumentam a atividade da lipase hepática. Os efeitos sobre a LDL-C são dependentes do grau de “androgenicidade” e da dose do progestagênio.<sup>83</sup>

Vale ressaltar, no entanto, que os progestagênios podem anular o potencial benéfico do estrogênio sobre os valores plasmáticos das lipoproteínas e lipídeos, mas não pioram os níveis plasmáticos prévios ao tratamento.<sup>84,85</sup>

Pelo seu comportamento positivo sobre o perfil lipídico e lipoprotéico, o estrogênio já foi comparado com medicamentos hipocolesterolêmiantes para o tratamento da dislipidemia. Estudos realizados para avaliar o comportamento da TRH de alta dose no tratamento de mulheres com hipercolesterolemia em relação às estatinas concluiu que o tratamento hormonal poderia ser uma alternativa para tratar casos leves e moderados desta doença.<sup>86,87</sup>

Levando em conta que a dislipidemia é um dos principais fatores de risco modificável no desenvolvimento da aterosclerose e, por conseguinte, das DCVs,<sup>88</sup> seria esperado que a melhora da dislipidemia proporcionada pela TRH significasse diminuição do risco cardiovascular. Porém, como visto anteriormente, ensaios clínicos não encontraram este benefício.

Contudo, análise secundária do estudo HERS permitiu observações interessantes quando analisado o tratamento da dislipidemia na sua amostra. Observou-se que o risco cardiovascular encontrado nas usuárias de TRH foi anulado no grupo em que se associou, em qualquer momento do estudo, a estatina.<sup>89</sup> A avaliação do banco de dados do WHI mostrou, por sua vez, que aquelas mulheres com a relação LDL-C/HDL-C inferior a 2,5 no início da TRH não apresentaram risco cardiovascular aumentado.<sup>90</sup>

Sendo assim, iniciar a TRH em mulheres com bom perfil lipídico e lipoprotéico ou associar medicamentos anti-lipidêmicos naquelas com este perfil alterado parece proporcionar menor risco cardiovascular.

A explicação plausível para esta constatação pode estar no fato de um metabólito do colesterol, o 27-hidroxicolesterol, competir com o estrogênio pelos seus receptores nas células do endotélio. Isso faz com que as ações benéficas da reposição estrogênica no vaso sejam diminuídas ou até anuladas.

91,92

Assim, na estratégia terapêutica dos sintomas climatéricos com terapia hormonal, a associação com uma medicação anti-lipidêmica passa a ser uma possibilidade racional para o não incremento do risco cardiovascular associado a esta terapia.

Dentre as medicações anti-lipidêmicas as estatinas são as mais utilizadas. Esta classe de medicamento atua inibindo de forma competitiva a enzima 3-hidróxi-3metilglutaril-coenzima A (HMGCoA) redutase. Essa enzima é responsável pela conversão da Acetiacetil-CoA em mevalonato que, após uma cascata enzimática, se transforma em colesterol. <sup>93,94</sup>

O bloqueio desta cadeia enzimática faz com que ocorra aumento da expressão dos receptores hepáticos do LDL-C e, conseqüentemente, aumento do seu *clearance* sérico. Há também a diminuição do nível sérico do colesterol total, do VLDL e dos triglicerídeos. O HDL-C aumenta de forma moderada em torno de 5 a 15% com esta medicação. <sup>93,94</sup>

Diversos ensaios clínicos demonstram uma redução nos desfechos cardiovasculares com o uso das estatinas e embasaram a sua utilização na prevenção primária e secundária desses eventos.<sup>56,95-99</sup>

Metanálise de cinco ensaios clínicos randomizados utilizando estatinas demonstrou redução de eventos coronarianos e da mortalidade total em 31% e 21%, respectivamente, independente do gênero e da idade.<sup>100</sup>

Estudo para prevenção primária demonstrou tendência de diminuição do número de mortes em usuárias de Pravastatina de 22% ( $p=0,051$ ) e diminuição de 30% para eventos coronarianos.<sup>99</sup>

Os estudos de prevenção secundária também são contundentes. O estudo 4S demonstrou que o uso diário de 10 mg de sinvastatina *versus* usuárias de placebo reduziu em 30% o número de mortes e em 34% o número de eventos coronarianos.<sup>57</sup> Nos estudos *Cholesterol and Recurrent Events* (CARE) e *Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease* (LIPID), a diminuição de eventos coronarianos foi de 24%.<sup>97,98</sup>

O impacto positivo da terapia com estatina nos desfechos cardiovasculares dificilmente pode ser explicada apenas pelo seu efeito dislipidêmico. A literatura sobre o assunto sugere que esta droga possui outras ações benéficas ao sistema cardiovascular e à prevenção do processo aterosclerótico.

Como relatado previamente, o óxido nítrico tem ação vasodilatadora e propriedades antitrombóticas. As estatinas parecem aumentar a biodisponibilidade daquele por elevar a óxido nítrico sintetase e por inibir o ânion superóxido.<sup>101</sup>

Dentre as etapas da formação da placa de ateroma, há a proliferação e migração das células musculares lisas do endotélio. Supõe-se que as estatinas, por ação no ciclo celular, levam à diminuição da proliferação destas células.<sup>102</sup>

As estatinas também se associam à redução de células inflamatórias envolvidas no processo aterosclerótico. Parecem inibir as moléculas de adesão intra-celular 1 (ICAM 1) e observa-se diminuição do nível sérico da proteína C reativa (PCR) com o seu uso.<sup>103</sup>

Finalmente, as estatinas contribuem para a estabilização da placa de ateroma através da diminuição do seu tamanho, da redução das células inflamatórias presentes e pela diminuição da produção de enzimas degradadoras de colágeno, como as metaloproteinases.<sup>104,105</sup>

A sinvastatina é derivada do fungo *Aspergillus terreus* e possui eficácia terapêutica semelhante a das outras estatinas. Pode ser considerada uma medicação de boa tolerância, sendo necessária a observação do uso concomitante de medicamentos que inibam o citocromo P450. As principais preocupações são a toxicidade hepática e a muscular. Aproximadamente 1% das usuárias apresentam transaminases com níveis superiores a três vezes o valor basal e necessitam interromper a medicação.<sup>93,94</sup>

Diante dos resultados positivos das estatinas no tratamento da dislipidemia e dos eventos cardiovasculares, importa saber se, com a associação de uma terapia hormonal, este comportamento seria mantido, diminuído ou até melhorado e se esta associação teria impactos preventivos

para doenças cardiovasculares e diminuiria o risco encontrado nos ensaios clínicos referentes ao uso da TRH.

Ensaio clínico demonstrou efeito benéfico no tratamento da hipercolesterolemia com a associação de estrogênios equinos conjugados, na dose de 1,25 mg e 5 mg de acetato de medroxiprogesterona com 10 mg de sinvastatina. A associação mostrou um melhor perfil lipídico em relação ao uso isolado das terapias.<sup>106</sup> De maneira semelhante, outro ensaio, utilizando 0,625 mg de estrogênio equino conjugado, concluiu que a associação com sinvastatina mostrou-se superior no tratamento de hipercolesterolemia em relação ao uso isolado desta droga.<sup>107</sup>

Todavia, os estudos disponíveis na literatura, que investigaram esta associação, tinham como objetivo primário a melhora do perfil lipídico e não avaliaram, de forma sistemática, o impacto no risco cardiovascular. Além disso, a concepção destes estudos foi feita previamente ao WHI e as doses utilizadas não são mais consideradas as ideais para a prática clínica.

Dessa forma, nos propusemos a avaliar comparativamente a eficácia do tratamento com TRH de baixa dose, de maneira isolada ou associada à sinvastatina, no comportamento de marcadores cardiovasculares, lipídicos e lipoprotéicos em mulheres sintomáticas e dislipidêmicas na pós-menopausa.

## **2. OBJETIVO**

Avaliar comparativamente a eficácia da TRH de baixa dose isolada ou associada à sinvastatina no comportamento de marcadores cardiovasculares, lipídicos e lipoprotéicos em mulheres sintomáticas e dislipidêmicas na pós-menopausa.

### **3. ARTIGO**

#### **3.1. ARTIGO – Versão em português**

Avaliação comparativa da eficácia da terapia hormonal isolada ou associada à sinvastatina no perfil lipídico e lipoprotéico em mulheres sintomáticas e dislipidêmicas na pós-menopausadas.

Artigo Original

Orientador: Prof. Dr. César Eduardo Fernandes

Orientando: Marcelo Luis Steiner

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar comparativamente a eficácia da terapêutica de reposição hormonal (TRH) de baixa dose isolada ou associada à sinvastatina no comportamento de marcadores de risco cardiovasculares e do perfil lipídico e lipoprotéico em mulheres sintomáticas e com dislipidemia na pós-menopausa.

**Métodos:** Duzentas e quarenta e duas mulheres na pós-menopausa, sintomáticas e com dislipidemia foram randomizadas em três grupos de tratamento: A) estradiol (E2) 1mg/acetato de noretisterona (NETA) 0,5mg [E2/NETA] + sinvastatina 20mg; B) E2/NETA + placebo; e C) sinvastatina 20mg + placebo. A eficácia de cada tratamento foi avaliada pela melhora do perfil lipídico e lipoprotéico e dos sintomas climatéricos ao final de 16 semanas de tratamento.

**Resultados:** O colesterol total, o LDL-C, o colesterol não-HDL e a Apo B diminuíram de forma significativa ( $p < 0,0001$ ) ao final de 16 semanas no grupo que utilizou E2/NETA + sinvastatina e naquele tratado com sinvastatina + placebo. A relação Apo B/Apo A1 também apresentou redução significativa nestes dois grupos ( $p < 0,0001$  e  $p = 0,0026$  respectivamente). A Apo A1 diminuiu apenas no grupo que recebeu E2/NETA + sinvastatina ( $p = 0,0055$ ). O grupo E2/NETA + placebo não apresentou alterações significativas no perfil lipídico e lipoprotéico entre as visitas basal e final. Aquele que utilizou E2/NETA + sinvastatina apresentou redução significativa do HDL-C e da Apo A1 quando comparado às usuárias de sinvastatina + placebo ( $p = 0,0233$  e  $p = 0,0231$  respectivamente). No alívio dos sintomas climatéricos, os grupos que utilizaram E2/NETA foram superiores a sinvastatina + placebo.

**Conclusão:** Em mulheres na pós-menopausa com dislipidemia, a associação de E2/NETA em baixa dose com sinvastatina aliviou os sintomas climatéricos de forma semelhante à observada com a E2/NETA isolada e melhorou o perfil lipídico e lipoprotéico de modo semelhante ao uso isolado da sinvastatina. O uso de E2/NETA sem sinvastatina diminuiu os sintomas climatéricos, mas não melhorou a dislipidemia.

**Palavras Chaves:** Dislipidemia; Lipoproteínas; Sinvastatina; Terapia de Reposição Hormonal.

## INTRODUÇÃO

O esgotamento folicular ovariano e a conseqüente parada da produção de estrogênio determinam mudanças para a saúde das mulheres. Dentre elas, podemos destacar os sintomas vasomotores pela sua alta prevalência e o aumento do risco cardiovascular por sua morbimortalidade.

O principal sintoma vasomotor são os fogachos que se fazem presentes em mais de 60% das mulheres menopausadas e associam-se a uma diminuição da qualidade de vida. Ao mesmo tempo, nesta fase há um aumento da incidência de doenças cardiovasculares, que são a principal causa de morte nestas mulheres.<sup>1,2</sup>

A terapia de reposição hormonal (TRH) pela sua eficácia no tratamento de sintomas climatéricos é considerada o principal tratamento para mulheres menopausadas sintomáticas. Por um longo período, quando respaldada por estudos observacionais, também era indicada na prevenção primária e secundária para doenças cardiovasculares.<sup>3-5</sup> Porém, esta indicação foi abolida após resultados de ensaios clínicos randomizados que mostraram aumento da mortalidade por eventos cardiovasculares em mulheres usuárias de TRH.<sup>2,3,5,6</sup>

As estatinas, por sua vez, mostram-se boa opção terapêutica para a diminuição da mortalidade cardiovascular. O *Scandinavian Simvastatin Survival Study* (Estudo 4S) mostrou diminuição de 42% nas mortes por eventos cardiovasculares nas usuárias de estatinas quando comparadas com o grupo placebo.<sup>7</sup> Isto parece ocorrer pela capacidade das sinvastatinas de combater a dislipidemia somada aos seus efeitos antiinflamatórios e antioxidantes, que

estabilizam as placas de ateroma e diminuem a chance de ruptura.<sup>8</sup> Todavia, não se avaliou os seus efeitos em relação aos sintomas climatéricos.

Diversos estudos demonstram que a TRH melhora o perfil lipídico e lipoprotéico de suas usuárias.<sup>9-12</sup> Levando em conta que a dislipidemia é o principal fator de risco modificável no desenvolvimento da aterosclerose e, por conseguinte, das DCVs,<sup>13</sup> seria esperado que a melhora daquele perfil significasse diminuição do risco cardiovascular. Porém, ensaios clínicos não encontraram este benefício.<sup>3-6</sup>

Análise secundária do estudo HERS permitiu observações interessantes quando analisado o tratamento da dislipidemia na sua amostra. O risco cardiovascular encontrado nas usuárias de TRH foi anulado no grupo em que foi associada, em qualquer momento do estudo, a estatina.<sup>14</sup>

Assim, interroga-se qual seria o impacto no risco cardiovascular ao associar uma estatina com a TRH. Acredita-se que o resultado de tal associação promoveria diminuição do risco de eventos cardiovasculares em mulheres na pós-menopausa.

Fak e cols avaliaram essa associação apenas para o tratamento da colesterolemia e não avaliando marcadores de risco cardiovascular.<sup>11</sup> Falta na literatura estudo demonstrando o benefício da TRH de baixa dosagem associada à sinvastatina no comportamento do perfil lipídico e lipoprotéico e do risco cardiovascular.

Dessa forma, nos propusermos a avaliar de maneira comparativa a eficácia do tratamento com TH de baixa dose de maneira isolada ou associada à sinvastatina no comportamento dos marcadores cardiovasculares, lipídicos e lipoprotéicos em mulheres sintomáticas na pós-menopausa.

## **METODOLOGIA**

Estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e placebo controlado realizado no Instituto de Saúde e Bem Estar da Mulher. Todos os procedimentos do estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição. Todas as participantes assinaram termo de consentimento antes da inclusão no estudo.

No período de dezembro de 2007 a novembro de 2008 foram convidadas 964 mulheres para participar do estudo. Para a inclusão, elas deveriam ter idade entre 45 e 65 anos, estar em amenorréia nos últimos 12 meses ou mais, apresentar índice de Kupperman igual ou superior a oito pontos e níveis séricos de colesterol total superior a 200 mg/dl e inferior a 320 mg/dl ou níveis de LDL-C superior a 130 mg/dl e inferior a 190 mg/dl ou triglicérides entre 150 mg/dl e 400 mg/dl.

Os critérios de não inclusão adotados foram: histerectomia prévia; hipersensibilidade conhecida à sinvastatina, ao estradiol ou à noretisterona; índice de massa corpórea (IMC) maior ou igual a 35 kg/m<sup>2</sup>; colpocitologia oncológica com atipias celulares nos últimos 12 meses; ultrassonografia transvaginal com espessura do eco endometrial superior a 10 mm nos últimos seis meses; mamografia classificada como BI-RADS<sup>®</sup> 0, 4, 5 ou 6 nos últimos seis meses; doença hepática ou nível plasmático das transaminases hepáticas (ALT e AST) acima do limite superior da normalidade; diabetes *mellitus* ou glicemia de jejum maior ou igual a 126 mg/dL; antecedentes de doença cardiovascular ou de tromboembolismo (venoso ou arterial); história progressiva

ou atual de tumores hormônios dependentes; hipotireoidismo descompensado (TSH > 5,0 µUI/ml).

Todas as mulheres interessadas em participar do estudo foram submetidas à triagem para avaliação dos critérios de seleção e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Na visita de triagem, após avaliação clínica, aferição do índice de Kupperman e exame físico, aquelas consideradas aptas a participar do estudo eram submetidas às dosagens séricas de triglicérides (TG), colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-C), LDL colesterol (LDL-C), TSH, apolipoproteínas A1 e B (Apo-A1 e Apo-B), creatinoquinase (CK), creatinina, glicemia e transaminases.

Das mulheres convidadas, 242 apresentaram todos os critérios para participação. Elas foram randomizadas e alocadas nos grupos de tratamentos.

O tratamento foi realizado por 16 semanas. Neste período, foram realizadas duas visitas clínicas, com coleta dos exames laboratoriais descritos acima com 8 semanas (V2) e com 16 semanas de tratamento (V3).

Para determinação da eficácia e da segurança das diferentes terapias, avaliou-se o índice de Kupperman e as dosagens séricas de TG, CT, HDL, LDL, TSH, Apo-A1, Apo-B, CK, creatinina, glicemia e transaminases nas visitas V2 e V3.

Todos os parâmetros antropométricos, a aferição da pressão arterial e a medida da circunferência abdominal foram realizados em todas as consultas pelo mesmo examinador.

## **Tratamento**

As medicações utilizadas no estudo foram a associação estradiol 1 mg com acetato de noretisterona 0,5 mg (E2/NETA) (Suprelle<sup>®</sup>, Biolab, São Paulo, Brasil) e sinvastatina 20 mg (Vaslip<sup>®</sup>, Biolab, São Paulo, Brasil). Para o controle, foram utilizados placebos com aparência, consistência, tamanho, sabor e odor idênticos às medicações ativas. Todas as medicações deveriam ser ingeridas à noite.

As pacientes incluídas foram randomicamente distribuídas para um dos três grupos: grupo A – receberam E2/NETA + sinvastatina; grupo B – receberam E2/NETA + placebo para a sinvastatina; grupo C – receberam placebo para o E2/NETA + sinvastatina.

## **Parâmetros de Eficácia**

Para a avaliação da eficácia, consideraram-se os valores médios dos parâmetros avaliados de cada grupo em cada um dos três momentos considerados ao longo do período de observação proposto. Quanto aos sintomas climatéricos a eficácia foi definida pela melhora do índice de Kupperman ao longo dos momentos avaliados.

A eficácia em relação à dislipidemia foi dada pela melhora no perfil lipídico e lipoprotéico, isto é, pela diminuição de TG, CT e LDL-C ou aumento de HDL-C na visita final em relação à basal.

Finalmente, para os marcadores de risco cardiovasculares, foi considerado como resposta efetiva o aumento da Apo-A1, diminuição da Apo-B e aumento da relação Apo-B/Apo-A1 quando comparadas as medidas da visita basal com a final.

As amostras sanguíneas foram obtidas com as pacientes em jejum de doze horas, tendo as dosagens sido realizadas por analisador bioquímico e turbidimétrico (*Biosystems A15, Biosystems, Barcelona, Espanha*). Para a medição do CT, TG e HDL-C foi utilizado o método de calorimetria (*Biosystems, Barcelona, Espanha*). O valor de VLDL foi obtido pela divisão do valor de triglicérides por cinco, do LDL-C foi obtido pela subtração de HDL-C e VLDL-C do valor de CT e o colesterol não-HDL através da subtração do HDL-C do CT. O método de turbidimetria foi também utilizado para a quantificação de Apo-A1 e Apo-B (*Ebram Produtos Laboratoriais, São Paulo, Brasil*).

### **Randomização**

A distribuição aleatória das mulheres nos diferentes grupos foi feita utilizando-se lista pré-estabelecida de randomização. Essa lista originou-se de uma raiz numérica escolhida aleatoriamente em tábuas de estatística e matemática disponíveis na literatura.<sup>15</sup> Distribuídos os pacientes nos três grupos, a ordem de dispensação randomizada dos medicamentos foi testada, também ao nível de 5%, pelo teste de Wald-Wolfowitz.

## **Cálculo do Tamanho Amostral**

Nos estudos em que os efeitos da associação de medicamentos utilizados não são suficientemente conhecidos na literatura e na ausência de estudo piloto, recomenda-se utilizar um *effect size* de 0,30.<sup>16</sup> Estimando as ocorrências de variação da amostra (*drop-outs*) e a divisão em três grupos, o risco de algum deles (ou todos) ficarem com *n* inferior a 30 mostrou ser grande. Por isso, o *effect size* foi fixado em 0,20.

Dessa forma, para um *effect size* presumido de 0,20, planejou-se uma amostra inicial de 240 pacientes, randomizados em blocos, em três grupos de 80. Com isto, buscou-se um poder da amostra superior a 80%, ao nível de significância de 5%.

## **Análise Estatística**

Para a análise dos dados basais, foram consideradas todas as pacientes randomizadas. Já para avaliação da eficácia, foram consideradas aquelas que utilizaram a medicação de forma correta em pelo menos 80% das vezes.

Para avaliar a comparabilidade dos grupos de tratamento, das características demográficas, dos dados basais antropométricos e dos exames laboratoriais da população, utilizou-se análise de variância (ANOVA). O índice de Kupperman foi avaliado pelo teste de qui-quadrado.

A análise da eficácia do tratamento foi realizada por meio de ANOVA, tendo sido empregado o procedimento de Tukey para comparação dos valores

iniciais e finais de cada grupo, nos casos em que ANOVA indicou diferença entre os grupos.

Adotou-se nível de significância de 5% para todas as comparações.

## **RESULTADOS**

Os três grupos de tratamento apresentaram características clínicas e laboratoriais semelhantes. Nenhuma das médias das variáveis analisadas na visita basal mostrou-se com diferença estatística significativa (Tabela 1).

A média do IMC encontrada foi de 28 kg/m<sup>2</sup> nos três grupos. Já a média da circunferência abdominal foi de 98,2cm no grupo A, 97,2cm no grupo B e 96,6cm no C.

Nas variáveis laboratoriais, a média basal do CT apresentou variação mínima entre os grupos com níveis de 233mg/dl no grupo A e 234mg/dl nos grupos B e C. Da mesma forma a média do LDL-C foi próxima nos três grupos sendo 152 mg/dl no grupo A e 151 nos demais grupos. A média do HDL-C foi superior a 50 mg/dl nos três grupos, com 55,6mg/dl no grupo A, 51,5mg/dl no B e 55mg/dl no C. Já a relação Apo-B/Apo-A1 variou de 0,82, no grupo B, a 0,89, no C.

Na avaliação dos parâmetros laboratoriais entre as visitas basal e final, observou-se uma diminuição do CT de 23% e 21% nos grupos A (n=66) e C (n=67) respectivamente. Esta evolução foi estatisticamente significativa com

$p < 0,001$  (Tabela 2). O mesmo ocorreu com o LDL-C e com o colesterol não-HDL, que diminuíram respectivamente em 31% e 30% no grupo A e 32% e 28% no grupo C,  $p < 0,001$  em ambos (Tabela 2). O grupo de tratamento B ( $n=54$ ) não apresentou variação estatisticamente significativa em nenhum destes parâmetros entre a visita basal e a final.

Quanto à Apo-A1, apenas o grupo A apresentou diferença estatística dos valores basais em relação aos finais. Neste grupo, ocorreu diminuição de 13,9 mg/dl da média desta lipoproteína, correspondendo a redução de 8,9% em relação ao basal, com  $p=0,0055$ .

Conforme o gráfico 1, os marcadores cardiovasculares Apo-B e a relação Apo-B/Apo-A1 apresentaram melhora estatisticamente significativa entre a basal e a final no grupo A (redução de 33,9% e de 27,7%, respectivamente,  $p < 0,0001$ ) e C (redução de 29,2% e de 37,0%, respectivamente,  $p < 0,005$ ). Nenhum grupo apresentou variação nos valores de TG e HDL-C (Tabela 2).

Na tabela 3, observa-se que os tratamentos dos grupos A e C foram mais eficazes, quando comparados ao do grupo B, na diminuição dos níveis de CT (A *versus* B,  $p < 0,0001$  e C *versus* B,  $p < 0,0001$ ), colesterol não-HDL (A *versus* B,  $p < 0,0001$  e C *versus* B,  $p < 0,0001$ ), LDL-C (A *versus* B,  $p < 0,0001$  e C *versus* B,  $p < 0,0001$ ), Apo-B (A *versus* B,  $p < 0,0001$  e C *versus* B,  $p < 0,0001$ ) e na relação ApoB/ApoA1 (A *versus* B,  $p < 0,0001$  e C *versus* B,  $p=0,0055$ ).

Na comparação dos grupos A e C, ao final do tratamento, as variáveis HDL-C e a Apo-A1 apresentaram diferenças estatisticamente significantes, com  $p=0,0233$  e  $p=0,0231$ , respectivamente, conforme mostrado no gráfico 1.

No grupo A, apesar de estatisticamente não significante, a HDL-C sofreu diminuição na média de  $-2,27 \pm 12,35$  mg/dl, correspondendo a variação de -2,5%, enquanto no grupo C ocorreu aumento médio de  $2,39 \pm 9,46$  mg/dl, ou acréscimo de 3,9%. Já com o marcador de risco Apo-A1, ambos os grupos de tratamento determinaram diminuição, mas no grupo A a redução média foi de  $-13,91 \pm 28,93$  mg/dl (variação: -8,9%), enquanto no grupo C foi de  $-1,77 \pm 33,77$  mg/dL (variação: -1,0%).

Os valores médios de TG não apresentaram diferença estatística na comparação dos grupos.

Conforme o gráfico 2 a média do índice de Kupperman apresentou melhora entre a visita basal e a visita 2 de 70% no grupos A e B versus uma melhora de 46% no grupo C ( $p=0,0037$ ). Já na comparação entre a visita basal e final o grupo A apresentou melhora de 84%, o grupo B de 75% e o C de 60% ( $p=0,0042$ )

## DISCUSSÃO

A TRH já foi considerada uma alternativa para o tratamento de hipercolesterolemia em mulheres menopausadas.<sup>9,10</sup> Da mesma maneira, o uso conjunto de sinvastatina e TRH já foi avaliado com resultados convincentes na melhora do perfil lipídico e lipoprotéico.<sup>11,17</sup>

Ocorre que, em todos os estudos prévios, não foi utilizado TRH de baixa dose e não se avaliou o comportamento de marcadores de risco cardiovascular. Assim, de maneira inédita, este estudo objetivou observar o provável benefício da associação de TRH de baixa dose a sinvastatina para o tratamento de sintomas climatéricos, para a melhora do perfil lipídico e lipoprotéico e o efeito sobre os marcadores de risco cardiovascular de mulheres menopausadas e com dislipidemia.

Vale ressaltar que a população avaliada, além da alteração do perfil lipídico e lipoprotéico, apresentou, em todos os grupos, IMC superior a 25 mg/kg<sup>2</sup> e circunferência abdominal acima de 88 cm na visita basal. Ou seja, uma população com fatores clínicos de riscos cardiovasculares aumentados. A semelhança entre os grupos não permitiu avaliar a influência dessas variáveis nos resultados finais.

A terapia de reposição hormonal oral possui efeitos benéficos no perfil lipídico e lipoprotéico de suas usuárias. A sua utilização acarreta uma diminuição nos níveis de colesterol total e LDL-C e um aumento no HDL-C. Essas alterações costumam ser acompanhadas de aumento do triglicérideo. Estudo prospectivo, avaliando o comportamento lipídico de mulheres utilizando a mesma dose e tipo de terapia hormonal, mostrou diminuição de 10,6% e

11,3% do CT e LDL-C, respectivamente. <sup>18</sup> O próprio estudo *Women's Health Initiative* (WHI), que não endossou a TRH para prevenção da doença cardiovascular, mostrou diminuição de 12,7% nos níveis séricos de LDL-C nas usuárias desta terapia. <sup>6</sup>

O grupo utilizando TRH sem associação com sinvastatina apresentou diminuição percentual entre as visitas basal e final dos níveis de colesterol total e LDL-C próximos de 5% e 6%, respectivamente. Já a variação da HDL-C entre as visitas foi de 4%. Ocorre que nenhum destes resultados alcançou significância estatística.

A melhora pouco significativa dos níveis lipídicos e lipoprotéicos das usuárias de TRH isolada pode ser explicada pelo tipo de progestagênio e pela dose de estradiol utilizados. A utilização da baixa dosagem, buscando a diminuição dos efeitos colaterais, acarreta numa diminuição da eficácia do estrogênio sobre os lipídeos. <sup>18,19</sup> Já a norestisterona, por seu perfil androgênico, pode diminuir o potencial de ação do estrogênio. <sup>17</sup>

Por outro lado, quando se associou sinvastatina à TRH, observaram-se melhorias estatisticamente significantes nos níveis séricos de CT, LDL-C, colesterol não-HDL, Apo-B e da relação Apo-B/Apo-A1 ao final das 16 semanas de tratamento. Este comportamento também ocorreu, como esperado, no uso isolado da sinvastatina.

O Estudo 4S foi o pioneiro na avaliação da sinvastatina na dose de 20 mg para a prevenção secundária de doenças cardiovasculares. Ele mostrou diminuição de 42% nas mortes por eventos cardiovasculares comparados com o grupo placebo. <sup>7</sup> Observando a equivalência estatisticamente significativa dos resultados dos grupos medicados com sinvastatina isolada e em associação

com TRH, no presente estudo, revela-se o potencial de benefícios da associação na possível prevenção de doença cardiovascular em mulheres com sintomas climatéricos.

O aumento do nível sérico do LDL-C é fator de risco para doença cardiovascular. Com base em estudos observacionais, a diminuição de 1% da LDL-C implica em redução de 2% de risco de doença cardiovascular.<sup>20</sup> Neste estudo, as usuárias de TRH e sinvastatina obtiveram redução deste lipídeo superior a 30%.

Apesar de pequena e não significativa, houve elevação do HDL-C na comparação dos valores basais e finais no grupo de uso isolado da sinvastatina. Já no grupo que associou as medicações, este lipídeo decresceu. Este comportamento provavelmente corroborou para a diferença estatisticamente significativa na comparação final entre os dois grupos em relação ao comportamento do HDL-C.

Vale ressaltar que, em nenhum momento do estudo e em nenhum grupo, a média da HDL ficou inferior a 50mg/dl, valor considerado de risco para doença cardiovascular.<sup>21</sup>

A Apo-A1, importante componente do HDL-C, por sua vez, decresceu em todos os grupos de tratamento quando avaliados os valores basais e finais. Contudo, esta redução foi significativa apenas no grupo que associou ambas as medicações. Da mesma forma que em relação ao HDL-C, este decréscimo significou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos usuários de sinvastatina.

Estudos demonstram que o índice representado pela relação Apo-B/Apo-A1 é um bom preditor de risco para infarto do miocárdio e de doença

cardiovascular, sendo superior à dosagem isolada de triglicérides, HDL ou a qualquer índice utilizando colesterol e suas frações.<sup>22-24</sup>

Além deste índice, a medida isolada da Apo-B também demonstra importante relação com o aumento do risco de doença cardiovascular.<sup>24,25</sup> Tanto nas usuárias de sinvastatina isolada como nas de sinvastatina associada à TRH, estes dois indicadores apresentaram redução estatisticamente significativa.

Apesar de não alcançar significância estatística, a melhora da relação Apo-B/Apo-A1 no grupo TRH + sinvastatina foi menor do que no grupo utilizando apenas sinvastatina. A explicação estaria na maior redução de Apo-A1 no grupo de terapêutica associada. Embora sem significância na comparação entre os grupos, esse achado alerta para a possibilidade da TRH utilizada neste estudo reduzir o efeito benéfico da sinvastatina na relação Apo-B/Apo-A1.

Uma explicação para esse comportamento relaciona-se à administração do progestagênio noretisterona. Como já mencionado, estudos com bom nível de evidência demonstram que a sua associação ao estrogênio pode diminuir ou anular o efeito deste hormônio principalmente na fração HDL do colesterol.<sup>17,26</sup> Isto se deve ao seu perfil androgênico e parece ter relação direta com a dose utilizada. O presente estudo não contribui para esclarecer se o efeito é do progestagênio ou não, haja vista não ter havido grupo tratado com TRH sem progestagênio, tampouco com progestagênios diferentes.

A associação de TRH e sinvastatina não apresentou diferença estatística da TRH sem sinvastatina associada na melhoria dos sintomas climatéricos.

Assim, pode-se supor que a sinvastatina não diminui os efeitos da TRH nestes sintomas.

A diminuição do índice de Kupperman no grupo de uso isolado da sinvastatina provavelmente deve-se ao efeito placebo. Metanálise com 24 ensaios clínicos realizada pela *Cochrane Library*, em 2004, identificou que mulheres que utilizaram placebo apresentaram redução superior a 50% do número de fogachos.<sup>27</sup> Nenhum estudo na literatura demonstra benefício real das estatinas em relação a qualquer sintoma climatérico.

Neste ensaio, avaliou-se apenas um esquema de terapia reposição hormonal com uma única composição e através de uma única via de administração. Interessa saber, por exemplo, o efeito da associação da sinvastatina com outros esquemas e vias de administração da TRH, bem como, contendo outros progestagênios, com perfis metabólicos diferentes da noretisterona.

O risco cardiovascular tem relação com condições clínicas, como o IMC, circunferência abdominal, tabagismo, sedentarismo e tipo de dieta. Nenhuma destas variáveis foi controlada durante o estudo. Todavia, no basal, os grupos eram similares quanto às variáveis confundidoras mencionadas. Outra limitação deste estudo é que não se avaliou a ocorrência de eventos cardiovasculares e sim marcadores intermediários de risco.

Por fim, cabe lembrar que uma das finalidades do tratamento hormonal em mulheres com síndrome climatérica é a melhoria da qualidade de vida, o que não foi objetivo deste estudo. Portanto, este ensaio não permite responder se a associação TRH com sinvastatina teria o mesmo impacto na qualidade de vida do que o uso da TRH isolada.

## **CONCLUSÃO**

Em mulheres na pós-menopausa com dislipidemia, a associação de E2/NETA em baixa dose com sinvastatina aliviou os sintomas climatéricos de forma semelhante à observada com a E2/NETA isolada e melhorou o perfil lipídico e lipoprotéico de modo semelhante ao uso isolado da sinvastatina. O uso de E2/NETA sem sinvastatina diminuiu os sintomas climatéricos, mas não melhorou a dislipidemia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mosca L, Collins P, Herrington DM e cols. Hormone Replacement Therapy and Cardiovascular Disease. A Statement for Health care Professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 2001; 47(3):1-60.
2. Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB e cols. Effects of estrogen replacement on progression of coronary artery atherosclerosis. *N Eng J Med*. 2000; 343:52-9.
3. Humphrey LL, Chan BKS, Sox HC e cols. Postmenopausal hormone replacement therapy and the primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med*. 2002; 137:273-84.
4. Nabulsi AA, Folsom AR, White A e cols. Association of Hormone-Replacement Therapy with various Cardiovascular Risk factors in Postmenopausal Women. *N Eng J Med*. 1993; 328:1069-75.
5. Grady D, Herrington D, Bittner V e cols for the HERS Research Group- Cardiovascular Disease Outcome During 6,8 Years of Hormone Therapy (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up-HERS II). *JAMA*. 2002; 288:49-57.
6. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Hutchinson F and Writing Group from the Women's Health Initiative Investigators. Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women. *JAMA*. 2002; 228(3):321-33.
7. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group, Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the

- Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*. 1994; 344: 1383-5.
8. Heart Protection Study Collaborative Group, MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20.536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002; 360: 7-22.
  9. Darling GM, Johns JA, McCloud PI, Davis SR. Jeans Hailes Foundation, Clayton, Concurrent use of simvastatin and estrogen-progestin therapy compared with each therapy alone for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *Climacteric*. 1999 Sep; 2(3):181-8.
  10. Vigna GB, Donegà P, Zanca R e cols. Simvastatin, transdermal patch, and oral estrogen-progestogen preparation in early-postmenopausal hypercholesterolemic women: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Metabolism*. 2002 Nov; 51(11):1463-70.
  11. Fak AS, Erenus M, Tezcan H e cols. Effects of simvastatin only or in combination with continuous combined hormone replacement therapy on serum lipid levels in hypercholesterolaemic post-menopausal women. *European Heart Journal*. 2000; 21: 190–7.
  12. Darling GM, Johns JA, Mcclaud PI, Davis SR. Estrogen and Progestin compared with simvastatin for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 1997; 337:595-601.
  13. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady AS e cols. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The

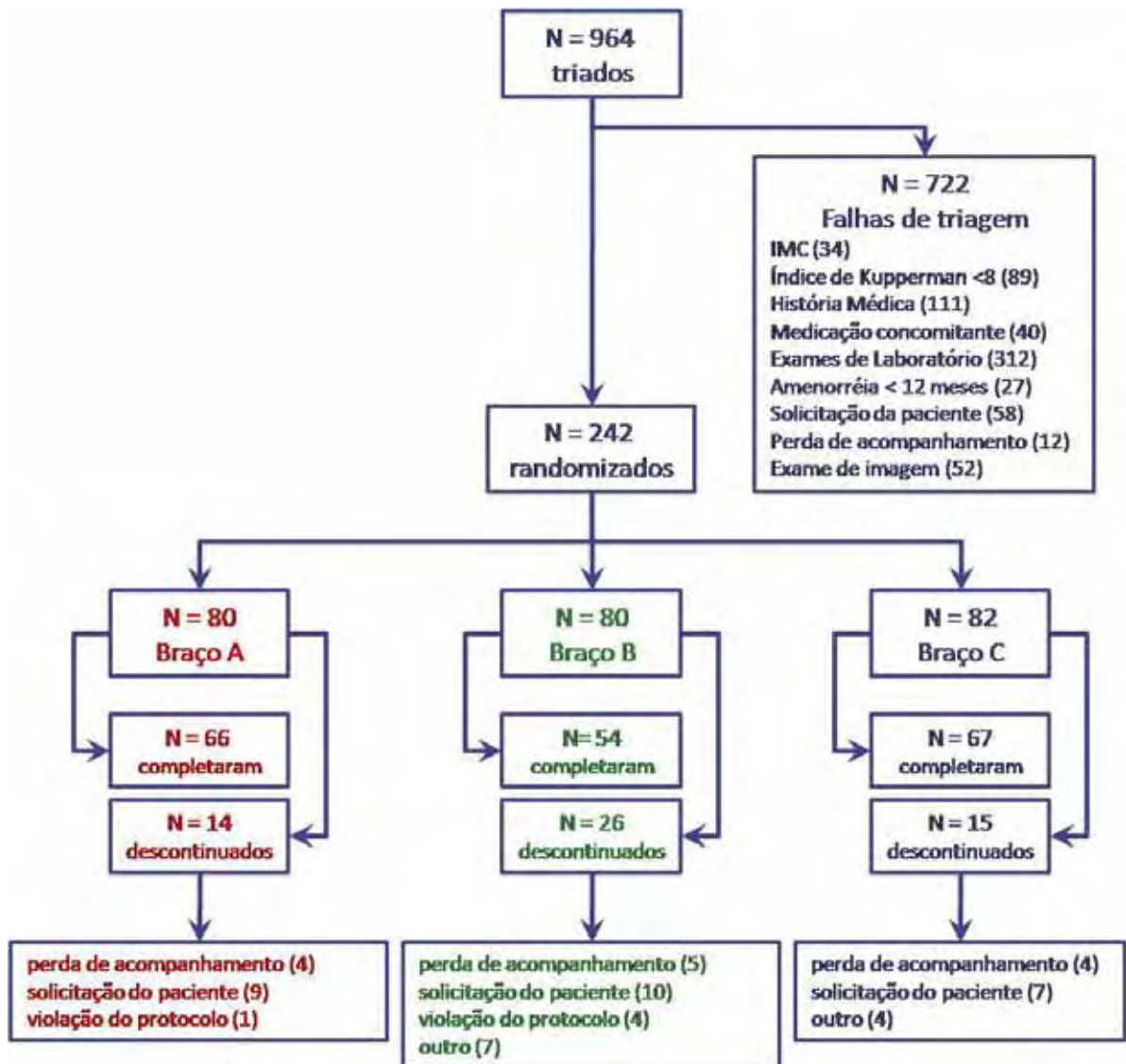
- Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC). Study. *Circulation*. 2001;104:1108–13.
14. Herrington DM, Vittinghoff E, Lin F e cols. Statin therapy, cardiovascular events and total mortality in the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS). *Circulation*. 2002; 105:2962–7.
  15. Bussab W e Moretin P. *Estatística Básica*, 4a. edição, Editora Atual, São Paulo, 1987.
  16. Cohen, J. The statistical power of abnormal-social psychological research: A review. *Journal of Abnormal and Social Psychology*. 1962; 65: 145-53.
  17. Davis SR, Goldstat R, Newman A e cols. Differing effects of low-dose estrogen-progestin therapy and pravastatin in postmenopausal hypercholesterolemic women. *Climacteric*. 2002 Dec; 5(4):341-50.
  18. Samsioe G, Li C, Borgfeldt C e cols. Changes in lipid and lipoprotein profile in postmenopausal women receiving low-dose combinations of 17 beta-estradiol and norethisterone acetate. *Menopause*. 2002 Sep-Oct; 9(5):335-42.
  19. Davidson MH, Maki KC, Marx P e cols. Effects of Continuous Estrogen and Estrogen-Progestin Replacement Regimens on Cardiovascular Risk Markers in Postmenopausal Women. *Arch Intern Med*. 2000; 160:3315-25.
  20. Lipid Research Clinics Program. The lipid research clinics coronary primary prevention trial results: I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA*. 1984; 251:351–64.

21. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy – a review of the evidence. *J Intern Med.* 2006; 259:493–519.
22. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S e cols. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet.* 2004; 364:937–52.
23. Sierra-Johnson J, Fisher RM, Romero-Corral A e cols. A Concentration of apolipoprotein B is comparable with the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and better than routine clinical lipid measurements in predicting coronary heart disease mortality: findings from a multi-ethnic US population. *European Heart Journal.* 2009; 30: 710–7.
24. Ingelsson E, Schaefer EJ, Contois JH e cols. Clinical utility of different lipid measures for prediction of coronary heart disease in men and women. *JAMA.* 2007; 298:776–85.
25. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001; 285: 2486-97.
26. Al-Azzawi F, Wahab M, Sami S e cols. Randomized trial of effects of estradiol in combination with either norethisterone acetate or trimegestone on lipids and lipoproteins in postmenopausal women. *Climacteric.* 2004 Sep; 7(3):292-300.

27. Maclennan AH, Broadbent JL, Lester S, Moore V. Oral oestrogen and combined oestrogen/progestogen therapy versus placebo for hot flushes. Cochrane Database Syst Rev. 2001; (1):CD002978.

## IMAGENS

Figura 1: Diagrama da Triagem e Randomização do Estudo.



**Tabela 1** – Características clínicas e laboratoriais basais dos três grupos de tratamento.

Variável	GRUPOS			valor p
	A (n=80)	B (n=80)	C (n=82)	
<b>Idade (anos)</b>	55 ±5	55 ±5	56 ±5	0,5829
<b>Peso (kg)</b>	67,2 ±10,6	68,1 ±10,6	66,7 ±10,4	0,4647
<b>Altura (cm)</b>	154 ±7	156 ±7	154 ±6	0,2699
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28,2 ±3,6	28,0 ±3,5	28,0 ±4,0	0,7244
<b>Cintura abdominal (cm)</b>	98,2 ±9,5	97,2 ±9,5	96,6 ±9,8	0,3226
<b>TG (mg/dl)</b>	140,1 ±53,4	152 ±77,5	138,9 ±58,3	0,3284
<b>CT(mg/dl)</b>	233,2 ±29	234,0 ±31,2	234,6 ±23,7	0,9528
<b>HDL-C (mg/dl)</b>	55,6 ±17,2	51,5 ±11,8	55,0 ±13,6	0,1525
<b>Colesterol não-HDL (mg/dL)</b>	177,6 ±33,6	182,5 ±33,3	179,5 ±28,1	0,6174
<b>LDL-C (mg/dl)</b>	152 ±27,0	151,5 ±30,7	151,8 ±27,7	0,983
<b>Apo-A1 (mg/dl)</b>	156,6 ±32,8	157,2 ±37,0	152,6 ±34,8	0,6559
<b>Apo-B (mg/dl)</b>	125,0 ±27,1	125,5 ±32,2	119,7 ±23,6	0,3392
<b>Apo-B/Apo-A1</b>	0,83 ±0,23	0,82 ±0,24	0,89 ±0,81	0,6192

d.p – desvio padrão.

Análise de variância (ANOVA). Nível de significância  $p < 0,05$ .

**Tabela 2** – Comportamento do perfil lipídico e lipoprotéico e dos marcadores cardiovasculares laboratoriais na visita basal e final.

VARIÁVEL	GRUPO	Basal		Final		VALOR p
		Média	±d.p	Média	±d.p	
TG (mg/dL)	A	138,95	±52,10	118,05	±87,00	0,0965
	B	160,80	±82,79	142,49	±73,60	0,2271
	C	138,71	±58,69	126,31	±58,32	0,2219
CT (mg/dL)	A	236,51	±23,35	182,16	±45,31	<b>&lt;0,0001</b>
	B	233,36	±34,70	221,61	±38,72	0,0996
	C	236,34	±22,88	187,89	±32,57	<b>&lt;0,0001</b>
HDL-C (mg/dL)	A	54,35	±13,86	52,88	±14,53	0,5546
	B	52,07	±10,88	54,03	±12,79	0,3933
	C	54,53	±12,59	56,66	±13,10	0,3384
Colesterol não-HDL (mg/dL)	A	182,16	±24,64	128,93	±42,80	<b>&lt;0,0001</b>
	B	181,29	±36,48	167,81	±42,96	0,0828
	C	181,81	±25,52	131,23	±35,09	<b>&lt;0,0001</b>
LDL-C (mg/dL)	A	154,42	±23,81	107,20	±40,72	<b>&lt;0,0001</b>
	B	149,18	±31,53	140,48	±39,57	0,2113
	C	154,05	±23,73	105,94	±34,16	<b>&lt;0,0001</b>
Apo-A1 (mg/dL)	A	156,53	±33,14	142,62	±22,49	<b>0,0055</b>
	B	156,41	±36,07	148,07	±26,66	0,1750
	C	153,48	±36,74	151,97	±21,99	0,7737
Apo-B (mg/dL)	A	125,12	±27,31	82,73	±25,41	<b>&lt;0,0001</b>
	B	124,41	±30,44	116,15	±29,56	0,1555
	C	121,49	±24,60	86,04	±22,44	<b>&lt;0,0001</b>
Apo-B/ Apo-A1	A	0,83	±0,23	0,60	±0,23	<b>&lt;0,0001</b>
	B	0,82	±0,24	0,81	±0,25	0,8215
	C	0,92	±0,89	0,58	±0,18	<b>0,0026</b>

d.p – desvio padrão.

Análise de variância (ANOVA). Nível de significância  $p < 0,05$ .

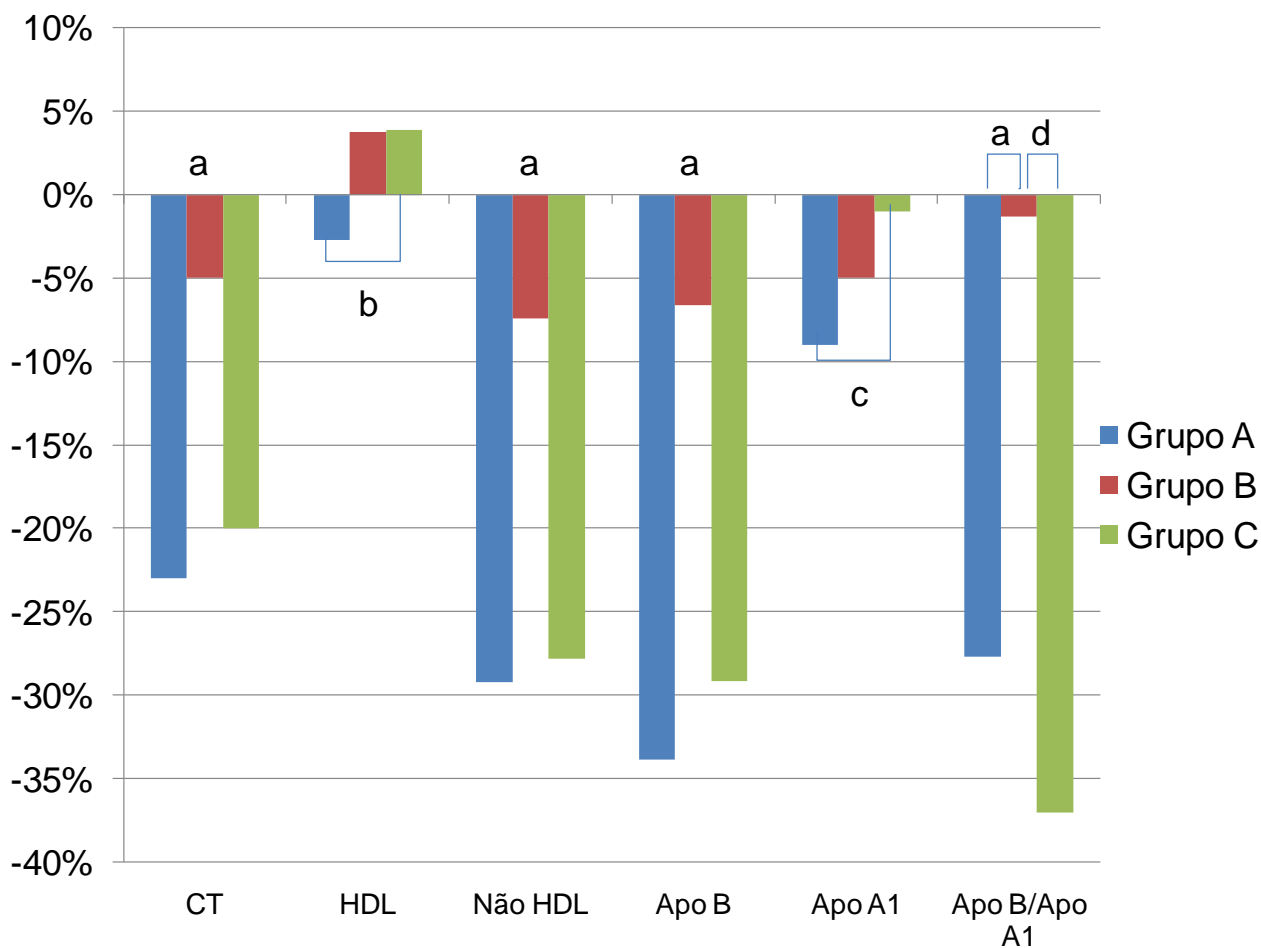
**Tabela 3** – Comparação das variações do perfil lipídico e lipoprotéico e dos marcadores cardiovasculares entre os grupos de tratamento.

Variável	Grupo	Variação Média mg/dL	d.p mg/dL	ANOVA			
				A vs B	B vs C	A vs B	A vs C
TG (mg/dL)	A	-20,90	73,86				
	B	-18,31	61,97	0,7460		0,8381	0,4641
	C	-12,85	59,13				0,5927
CT (mg/dL)	A	-54,35	43,92				
	B	-11,75	27,84	<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>	0,3873
	C	-49,88	32,20				<b>&lt;0,0001</b>
HDL-C (mg/dL)	A	-2,27	12,35				
	B	0,97	11,08	0,0637		0,1375	<b>0,0233</b>
	C	2,39	9,46				0,5368
Col-não HDL (mg/dL)	A	-55,18	43,97				
	B	-16,59	35,86	<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>	0,5067
	C	-52,27	32,87				<b>&lt;0,0001</b>
LDL-C (mg/dL)	A	-48,85	42,98				
	B	-11,29	31,58	<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>	0,9136
	C	-49,71	33,16				<b>&lt;0,0001</b>
Apo-A1 (mg/dL)	A	-13,91	28,93				
	B	-8,33	27,47	0,0615		0,2851	<b>0,0231</b>
	C	-1,77	33,27				0,2267
Apo-B (mg/dL)	A	-42,39	28,58				
	B	-8,26	17,35	<b>&lt;0,0001</b>		<b>&lt;0,0001</b>	0,1605
	C	-36,92	25,64				<b>&lt;0,0001</b>
Apo-B/Apo-A1	A	-0,23	0,21				
	B	-0,01	0,14	<b>0,0032</b>		<b>&lt;0,0001</b>	0,3053
	C	-0,35	0,85				<b>0,0055</b>

d.p – desvio padrão.

Análise de variância (ANOVA). Nível de significância  $p < 0,05$ .

**Gráfico 1** - Variações final vs.basal de CT, HDL, colesterol não-HDL, Apo-B, Apo-A1 e relação Apo-B/Apo-A1 para cada grupo de tratamento.



Análise de variância (ANOVA). Nível de significância  $p < 0,05$ .

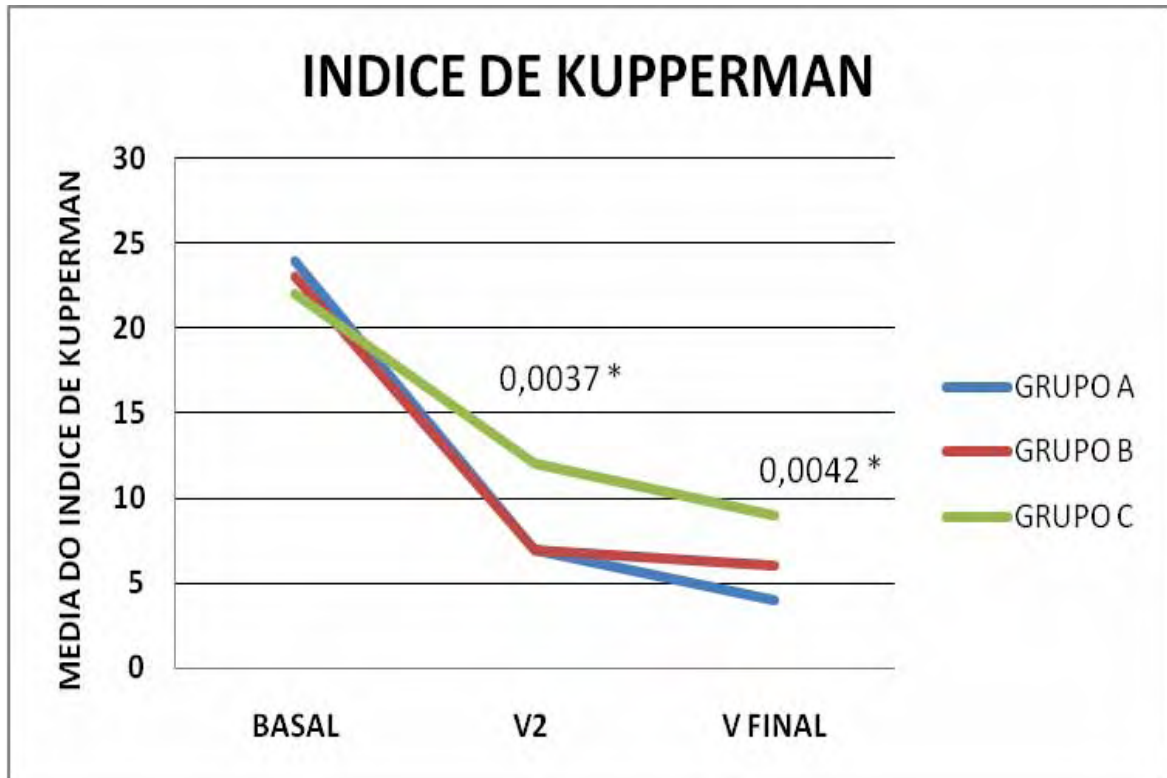
a – Grupo A versus Grupo B e Grupo B versus Grupo C,  $p < 0,0001$  e Grupo A versus Grupo C não significante

b – Grupo A versus Grupo C com  $p = 0,0233$

c – Grupo A versus Grupo C com  $p = 0,0231$

d – Grupo B versus Grupo C com  $p = 0,0055$

**Gráfico 2** - Evolução do Índice de Kupperman ao longo do estudo nos diferentes grupos. Os números acima de cada ponto correspondem ao valor de P na comparação entre os três grupos.



\*Análise dos grupos por  $\chi^2$

### 3.2. ARTIGO - Versão em inglês enviada para a revista “Climacteric”

Low-dose hormone replacement therapy with or without simvastatin in dyslipidemic and symptomatic menopausal women: a randomized trial

Marcelo L STEINER, MD, MSc,<sup>1</sup> Luciano M POMPEI, MD, PhD,<sup>2</sup> Rodolfo STRUFALDI, MD, MSc,<sup>3</sup> Everaldo P CUNHA, MD, MSc,<sup>4</sup> César E FERNANDES, MD, MSc, PhD<sup>5</sup>.

Study conducted at the *Instituto de Saúde e Bem Estar da Mulher*, São Paulo, SP, Brazil.

<sup>1</sup> Postgraduate student in Gynecology, Obstetrics and Mastology at the State University of São Paulo (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup> Assistant Physician, Gynecological Endocrinology and Menopause Division, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculdade de Medicina do ABC, São Bernardo do Campo, São Paulo, Brazil.

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculdade de Medicina do ABC, São Bernardo do Campo, São Paulo, Brazil.

<sup>4</sup> Assistant Professor, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculdade de Medicina do ABC, São Bernardo do Campo, São Paulo, Brazil.

<sup>5</sup> Head of the Gynecological Endocrinology and Menopause Division, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculdade de Medicina do ABC, São Bernardo do Campo, São Paulo, Brazil.

**Sources of funding:** This study received financial support from Biolab Farmacêutica.

**Conflicts of interest:** None.

**Short title:** Low-dose hormone therapy and simvastatin in dyslipidemic menopausal women

## ABSTRACT

**Objectives:** To evaluate low-dose hormone therapy (HT) + simvastatin for vasomotor symptoms and cardiovascular risk markers.

**Study design:** Symptomatic postmenopausal women (n=242) with dyslipidemia were randomized to one of three treatment groups: A) 1mg estradiol/0.5mg norethisterone acetate (E2/NETA) + 20mg simvastatin; B) E2/NETA + placebo; or C) 20mg simvastatin + placebo. Lipid and lipoprotein profiles and menopausal symptoms were evaluated after 16 weeks.

**Results:** Total cholesterol, LDL cholesterol, non-HDL cholesterol and Apo-B decreased ( $p < 0.0001$ ) in groups A and C, as did Apo-B/Apo-A1 ( $p < 0.0001$  and  $p = 0.0026$ , respectively). Apo-A1 decreased only in group A ( $p = 0.0055$ ). HDL cholesterol and Apo-A1 were lower in A than C ( $p = 0.0233$  and  $p = 0.0231$ , respectively). Relief of menopausal symptoms was better in A and B compared to C.

**Conclusion:** HT + simvastatin were effective for the treatment of symptomatic postmenopausal women and improved the lipid profile similar to simvastatin alone. It also delivered an improvement in the simultaneous treatment of menopausal symptoms and dyslipidemia

**Keywords:** Dyslipidemia, Hormone Replacement Therapy, Lipoproteins, Simvastatin.

## Introduction

Menopause heralds a time of new challenges for women, particularly with respect to the menopausal symptoms that affect quality of life and the increased cardiovascular risk. The most prevalent of these symptoms are the hot flushes that affect more than 60% of menopausal women. At this same time, cardiovascular diseases (CVD) become the principal culprits responsible for mortality in women of this age-group.<sup>1,2</sup>

Postmenopausal hormone replacement therapy (HRT) is the most effective treatment for menopausal symptoms. Based on observational studies, HRT was indicated for the primary and secondary prevention of CVD and was long recommended as the treatment of choice for menopausal women.<sup>3-5</sup> Nevertheless, following interventional studies that showed an increase in mortality from cardiovascular events in women using HRT,<sup>2,3,5</sup> physicians became more reluctant to prescribe this therapy, despite the methodological issues involved in these studies.<sup>6</sup>

On the other hand, statins have been shown to represent a good option for reducing cardiovascular mortality. Their capacity to combat dyslipidemia, together with their antiinflammatory and antioxidant effects that stabilize atheromatous plaques decreasing the likelihood of rupture, appear to be the principal mechanisms responsible for this beneficial effect.<sup>7,8</sup> Nevertheless, it is not yet known whether this drug exerts any effect on menopausal symptoms.

Various studies have shown the positive effect of HRT on the lipid profile.<sup>9-12</sup> However, in view of the negative evidence on cardiovascular risk, this

benefit does not support the recommendation of HT for the primary prevention of CVD.

Therefore, one of the options for maintaining the use of HRT in symptomatic menopausal women without fear of increasing cardiovascular risk would be to associate this therapy with a statin. It is believed that the result of this combination would be positive and would lead to a decrease in the risk of cardiovascular events such as acute myocardial infarction and cerebrovascular accidents in postmenopausal women.

Fak et al. evaluated this drug combination and concluded that it was more effective than simvastatin alone for the treatment of hypercholesterolemia.<sup>11</sup> However, they used high-dose HRT and failed to evaluate cardiovascular risk markers. To the best of our knowledge, there are no studies in the literature showing the benefits of low-dose HRT in association with simvastatin on lipid profile and cardiovascular risk. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the effects of treatment with low-dose postmenopausal hormone therapy alone or in combination with simvastatin on inflammatory cardiovascular markers, lipids and lipoproteins in symptomatic postmenopausal women.

## Materials and Methods

A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study was conducted in the *Instituto de Saúde e Bem Estar da Mulher*. All the procedures carried out in the study were previously approved by the institute's internal review board. All the participants signed an informed consent form prior to inclusion in the study.

A total of 964 women were invited to participate in the trial. Inclusion criteria consisted of: age 45-65 years, amenorrhea for  $\geq 12$  months, Kupperman Index (KI)  $\geq 8$  points (total possible score: 51), and serum total cholesterol (TC) levels  $>200$  mg/dl and  $<320$  mg/dl or LDL  $>130$  mg/dl and  $<190$  mg/dl or triglycerides (TG) between 150 mg/dl and 400 mg/dl.

The exclusion criteria comprised: a) hysterectomized women; b) known hypersensitivity to simvastatin, estradiol or norethisterone acetate; c) body mass index (BMI)  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup>; d) cytological and colposcopic evidence of cervical atypia within the past 12 months; e) transvaginal ultrasonography performed within the past six months showing endometrial thickness  $>10$  mm; f) mammography within the previous six months classified as BI-RADS<sup>®</sup> 0, 4, 5 or 6; g) liver disease or ALT and AST levels above the upper limits of normal; h) diabetes mellitus or fasting glucose  $\geq 126$  mg/dl; i) personal history of CVD or thromboembolism; j) previous or current hormone-dependent tumors; and k) uncontrolled hypothyroidism (TSH  $>5.0$   $\mu$ IU/ml).

As shown in Figure 1, 242 of the women invited to participate in the study met the admission criteria and attended visit 1 (V1). Baseline KI and serum levels of TG, TC, HDL, LDL, TSH, apolipoproteins A1 and B (Apo-A1 and Apo-

B), creatine kinase (CK), creatinine, glucose and transaminases were assessed. Next, the women were randomized and allocated to the treatment groups.

Treatment was conducted over 16 weeks, with the women visiting the clinic at 8 weeks (V2) and after the 16 weeks of treatment (V3). The laboratory tests and the KI evaluation were repeated at V2 and V3.

## **Treatment**

Medication used in the study consisted of: 1 mg estradiol/0.5 mg norethisterone acetate (E2/NETA) (Suprelle<sup>®</sup>, Biolab Farmacêutica, São Paulo, Brazil) and 20 mg simvastatin (Vaslip<sup>®</sup>, Biolab Farmacêutica, São Paulo, Brazil). The placebos used were identical to the active drugs in appearance, consistency, size, taste and smell. Patients were instructed to take all medication at night.

The patients included in the study were randomly assigned to one of three treatment groups: Group A: patients received E2/NETA + simvastatin; Group B: patients received E2/NETA + the simvastatin placebo; and Group C: patients received the E2/NETA placebo + simvastatin.

## **Efficacy Parameters**

The treatment was considered effective for menopausal symptoms when there was improvement in symptoms at final visit compared to baseline.

The efficacy of the treatment on dyslipidemia was measured according to whether an improvement was found in the lipid profile, as shown by a reduction in TG, TC and LDL or an increase in HDL at the final visit compared to baseline.

The efficacy of the treatment on the cardiovascular risk markers was determined by an increase in Apo-A1, a reduction in Apo-B or a reduction in Apo-B/Apo A1 ratio when values at the final visit were compared with baseline.

Blood samples were drawn after a 12-hour fast and measurements were performed by turbidimetry using a biochemical analyzer (A15, Biosystems, Barcelona, Spain), while TC, TG and HDL were measured by calorimetry (Biosystems, Barcelona, Spain). LDL levels were obtained by subtracting TG divided by 5 and HDL from the TC level. Turbidimetry was also used to quantify Apo-A1 and Apo-B (*Ebram Produtos Laboratoriais*, São Paulo, Brazil).

## **Randomization**

The women were randomized to the different groups according to a preestablished list that was generated using a numerical root randomly chosen from statistical and mathematical tables available in the literature.<sup>13</sup> After the patients had been assigned to the three groups, the order of random drug dispensing was tested, also at a 5% level, using the Wald-Wolfowitz test.

## **Calculation of sample size**

When the effects of the drug association being investigated have not been sufficiently documented in the literature and when no pilot study has been conducted, the recommendation is to use an effect size of 0.30.<sup>14</sup> Considering sample variation (drop-outs) and the fact that the total sample would be divided into three groups, the risk of one (or all) of the groups falling below  $n=30$  was found to be reasonable; hence, the effect size was reconsidered and defined at 0.20. Therefore, for an intended effect size of 0.20, an initial sample of 240 patients would be required, which would then be block-randomized into three groups of 80. This sample size was assumed to be sufficient at a power >80% and significance level of 5%.

## **Statistical Analysis**

The baseline data of all randomized patients were considered in the final analysis. However, in the evaluation of the efficacy of treatment, only the data from those women who had used the medication correctly at least 80% of the time were taken into consideration.

To evaluate comparability between the treatment groups, the demographic characteristics, baseline anthropometric data and laboratory tests of the population were compared using analysis of variance (ANOVA). The KI was evaluated using the chi-square test.

ANOVA was followed by Tukey's test to compare the baseline and final values of each group whenever ANOVA detected a difference between the groups.

In addition, the frequency of adverse events was evaluated per visit for each treatment group according to the number and percentage of patients with any adverse event or by the type of adverse event being evaluated.

A significance level of 5% was adopted throughout the analysis.

## Results

No significant differences were found between the three treatment groups in regard to the baseline clinical and laboratory characteristics of the patients (Table 1).

In Group B (n=54), no variation occurred in any of the parameters evaluated, whereas in Groups A (n=66) and C (n=67), TC, LDL and non-HDL cholesterol levels decreased significantly at the final visit compared to baseline ( $p<0.001$ ) (Table 2).

In Group A alone, mean Apo-A1 levels decreased 13.9 mg/dl at the final evaluation, a reduction of 8.9% compared to baseline ( $p=0.0055$ ). Figure 2 shows a significant improvement in the cardiovascular markers Apo-B and the Apo-B/Apo-A1 ratio at the end of the study in Group A (reductions of 33.9% and 27.7%, respectively;  $p=0.0001$ ) and in Group C (reductions of 29.2% and 37.0%, respectively;  $p<0.005$ ). There were no significant changes in TG and HDL in any of the groups (Table 2).

As shown in Table 3, the treatment regimens used in Groups A and C were more effective than that used in Group B for reducing levels of TC, non-HDL cholesterol, LDL, Apo-B (A versus B,  $p<0.0001$  and C versus B,  $p<0.0001$ ) and the Apo-B/Apo-A1 ratio (A versus B,  $p<0.0001$  and C versus B,  $p=0.0055$ ).

Comparing Groups A and C at the end of treatment, a statistically significant difference was found in HDL and Apo-A1 ( $p=0.0233$  and  $p=0.0231$ , respectively) (Figure 2). In Group A, there was a mean reduction in HDL of  $-2.27 \pm 12.35$  mg/dl, a variation of -2.5%, whereas in Group C a mean increase of  $2.39 \pm 9.46$  mg/dl was found, an increase of 3.9%. The Apo-A1

cardiovascular risk marker decreased in both treatment groups; however, in Group A the mean reduction was  $-13.91 \pm 28.93$  mg/dl (variation of -8.9%) compared to  $-1.77 \pm 33.77$  mg/dl (variation of -1.0%) in Group C.

Mean TG levels did not vary significantly between the groups.

A better response in the KI was found in Groups A and B compared to C. This improvement was already found at V2 and remained present at the final visit (Figure 3).

## Comment

Combined treatment with simvastatin and HRT has already been evaluated in other studies and reports on an improvement in lipid profiles have been convincing.<sup>11,15</sup> Prior to the Women's Health Initiative (WHI) study, HRT had come to be considered an alternative or even a first line therapy for the treatment of hypercholesterolemia in menopausal women.<sup>9,10</sup>

In view of the good therapeutic response achieved with this association and the concept of the lowest effective therapeutic dose that was established following the WHI study, the protocol of this present trial was designed to evaluate the use of simvastatin with low-dose HRT for the first time.

In addition to having an abnormal lipid profile, all the groups in this sample population had BMI  $>25$  kg/m<sup>2</sup> and waist circumference  $>88$  cm at baseline, constituting a population at an increased risk of CVD. Nevertheless, since there was no statistically significant difference between the groups at baseline, these variables did not affect the final results.

In the group of women using hormone therapy alone (B), no significant changes occurred in any of the laboratory variables evaluated. Nonetheless, there was a reduction in TC and LDL levels of approximately 5% and 6%, respectively. This positive effect on lipid profiles is in agreement with reports in the literature. Samsioe et al. evaluated the lipid profile of women using the same dose and type of hormone therapy and reported a reduction of 10.6% and 11.3% in TC and LDL, respectively.<sup>16</sup> The WHI study, which did not endorse HRT for the prevention of CVD, showed an improvement of 12.7% in LDL levels.<sup>6</sup>

The variation in HDL and TG in the group of women using HRT alone was not statistically significant in the present study. This is also in agreement with data published in the literature from studies in which NETA appeared to cancel out the effect of oral estrogen in increasing HDL and TG levels.<sup>16,17</sup> On the other hand, when simvastatin was associated with HRT, significant improvements were found in serum levels of TC, LDL, non-HDL cholesterol, Apo-B and in the Apo-B/Apo-A1 ratio after 16 weeks of treatment. As expected, this also occurred in the group of women using simvastatin alone (C).

Comparison between groups shows that when HRT was associated with simvastatin, the benefits found with the use of simvastatin alone were preserved, thereby confirming the potential of this therapeutic combination for the possible prevention of CVD in women with menopausal symptoms.

The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) was the first to evaluate the use of 20 mg of simvastatin for the secondary prevention of CVD. The results of this study showed a reduction of 42% in deaths from cardiovascular events compared to the placebo group.<sup>8</sup> Considering that in the present study, the association of HRT with simvastatin resulted in similar effects to those found with the use of simvastatin alone, it is reasonable to conclude that this combination would also have a cardioprotective effect.

Increased LDL levels represent a risk factor for CVD. Based on observational studies, a 1% reduction in LDL levels implies a 2% reduction in the risk of CVD.<sup>18</sup> In the present study, the users of HRT and simvastatin had a reduction of over 30% in this lipid.

Levels of Apo-A1, an important component of HDL, decreased in all the treatment groups at the end of the study compared to baseline. Nevertheless,

this reduction was significant only in the group using the combination of the two medications (A). Compared with the slight variation that occurred in the group of women using simvastatin alone, this decrease was found to be statistically significant. However, mean HDL levels failed to fall below 50 mg/dl, the value considered representative of a risk of CVD, at any point in the study and in any of the groups evaluated.<sup>19,23</sup>

Recent studies have shown that the Apo-B/Apo-A1 ratio is a good predictor of risk of myocardial infarction and CVD, constituting a better indicator than the measurement of triglycerides and HDL alone.<sup>20-22</sup> In addition to this index, Apo-B levels alone have also been shown to be significantly associated with an increased risk of CVD.<sup>22,23</sup> A statistically significant reduction was found in these two indicators, both in the users of simvastatin alone and in the group of women using HRT + simvastatin .

A significant negative effect on final Apo-A1 and HDL levels was found in the group using HRT + simvastatin compared to the group using simvastatin alone. However, despite this negative effect, the Apo-B/Apo-A1 ratio appeared to improve in the HRT + simvastatin group (A), albeit to a lesser extent than in the group using simvastatin alone. This may be explained by the greater reduction in Apo-A1 in the combined therapy group (A). Although the difference between Groups A and C was not statistically significant, this finding serves as an alert to the possibility that HT may lead to a slight decrease in the beneficial effect of simvastatin on the Apo-B/Apo-A1 ratio.

The explanation for this finding is complex. It may be related to use of NETA. As previously mentioned, studies with a high level of evidence have shown that the combination of NETA with estrogen may reduce or cancel the

effect of this hormone, particularly on the HDL fraction of cholesterol.<sup>15,24</sup> This is a consequence of the drug's androgenic profile and appears to be directly related to the dose used. The present study failed to contribute towards clarifying whether the effect derives from the progestogen or not, since there was no group treated with HRT that did not contain this progestogen or that included different progestogens.

There was no statistically significant difference between the association of HRT and simvastatin and HRT without concomitant use of simvastatin with regard to the improvement of menopausal symptoms. Therefore, it is reasonable to presume that simvastatin did not reduce the effects of HRT on these symptoms.

The reduction in the KI in the group using simvastatin alone (C) may be a result of the placebo effect. A metaanalysis conducted by the Cochrane Library in 2004 involving 24 clinical trials found that women using placebo had a reduction of over 50% in the number of hot flashes.<sup>25</sup> No study in the literature has shown the actual benefit of statins in treating any of the symptoms of the menopause.

Finally, the present study was limited to evaluating HRT that consisted of one single compound given by one single route of administration. There is a need to evaluate the effect of the association of simvastatin with other HRT regimens and using other routes of administration, including the use of other progestogens with metabolic profiles that differ from that of norethisterone.

Cardiovascular risk is related to clinical conditions such as BMI, waist circumference, smoking, a sedentary lifestyle and type of diet. The present study failed to control for any of these variables; however, the groups were

similar at baseline with respect to all possible confounding variables. Another limitation is the fact that intermediary risk markers rather than the occurrence of cardiovascular events were evaluated.

One of the goals of hormone treatment in women with menopausal symptoms is to improve their quality of life and this was not one of the objectives of this study; therefore, the present results fail to provide any answer regarding whether the association of HRT and simvastatin has the same effect on quality of life as the use of HRT alone.

In conclusion, the use of hormone therapy with low-dose estradiol and NETA associated with simvastatin was shown to be effective for the treatment of menopausal symptoms and dyslipidemia in postmenopausal patients presenting with these two conditions simultaneously. The association resulted in a therapeutic response similar to that achieved with the use of HRT and simvastatin alone for the treatment of menopausal symptoms and dyslipidemia, respectively.

### **Acknowledgements:**

Priscilla Scaff Padilha, Biolab clinical research coordinator

## References

1. Mosca L, Collins P, Herrington DM et al. Hormone replacement therapy and cardiovascular disease: a statement for health care professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 2001; 104:499-503.
2. Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, et al. Effects of estrogen replacement on the progression of coronary artery atherosclerosis. *N Eng J Med*. 2000; 343:522-9.
3. Humphrey LL, Chan BK, Sox HC. Postmenopausal hormone replacement therapy and the primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med*. 2002; 137:273-84.
4. Nabulsi AA, Folsom AR, White A et al. Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *N Eng J Med*. 1993; 328:1069-75.
5. Grady D, Herrington D, Bittner V et al. HERS Research Group. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up (HERS II). *JAMA*. 2002; 288:49-57.
6. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL et al. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002; 228:321-33.

7. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002; 360:7-22.
8. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*. 1994; 344:1383-5.
9. Darling GM, Johns JA, McCloud PI, Davis SR. Concurrent use of simvastatin and estrogen-progestin therapy compared with each therapy alone for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *Climacteric*. 1999; 2:181-8.
10. Vigna GB, Donegà P, Zanca R et al. Simvastatin, transdermal patch, and oral estrogen-progestogen preparation in early-postmenopausal hypercholesterolemic women: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Metabolism*. 2002; 51:1463-70.
11. Fak AS, Erenus M, Tezcan H et al. Effects of simvastatin only or in combination with continuous combined hormone replacement therapy on serum lipid levels in hypercholesterolaemic post-menopausal women. *Eur Heart J*. 2000; 21:190-7.
12. Darling GM, Johns JA, McCloud PI, Davis SR. Estrogen and progestin compared with simvastatin for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 1997; 337:595-601.
13. Bussab W, Moretin P. *Estatística Básica*. 4a. edição. São Paulo: Editora Atual; 1987.
14. Cohen J. The statistical power of abnormal-social psychological research: a review. *J Abnorm Soc Psychol*. 1962; 65:145-53.

15. Davis SR, Goldstat R, Newman A et al. Differing effects of low-dose estrogen-progestin therapy and pravastatin in postmenopausal hypercholesterolemic women. *Climacteric*. 2002; 5:341-50.
16. Samsioe G, Li C, Borgfeldt C et al. Changes in lipid and lipoprotein profile in postmenopausal women receiving low-dose combinations of 17beta-estradiol and norethisterone acetate. *Menopause*. 2002; 9:335-42.
17. Davidson MH, Maki KC, Marx P et al. Effects of continuous estrogen and estrogen-progestin replacement regimens on cardiovascular risk markers in postmenopausal women. *Arch Intern Med*. 2000; 160:3315-25.
18. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results: I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA*. 1984; 251:351–64.
19. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001; 285:2486-97.
20. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy – a review of the evidence. *J Intern Med*. 2006; 259:493-519.
21. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S et al; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004; 364:937-52.
22. Sierra-Johnson J, Fisher RM, Romero-Corral A et al. Concentration of apolipoprotein B is comparable with the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and better than routine clinical lipid measurements in predicting

coronary heart disease mortality: findings from a multi-ethnic US population. *Eur Heart J.* 2009; 30:710-7.

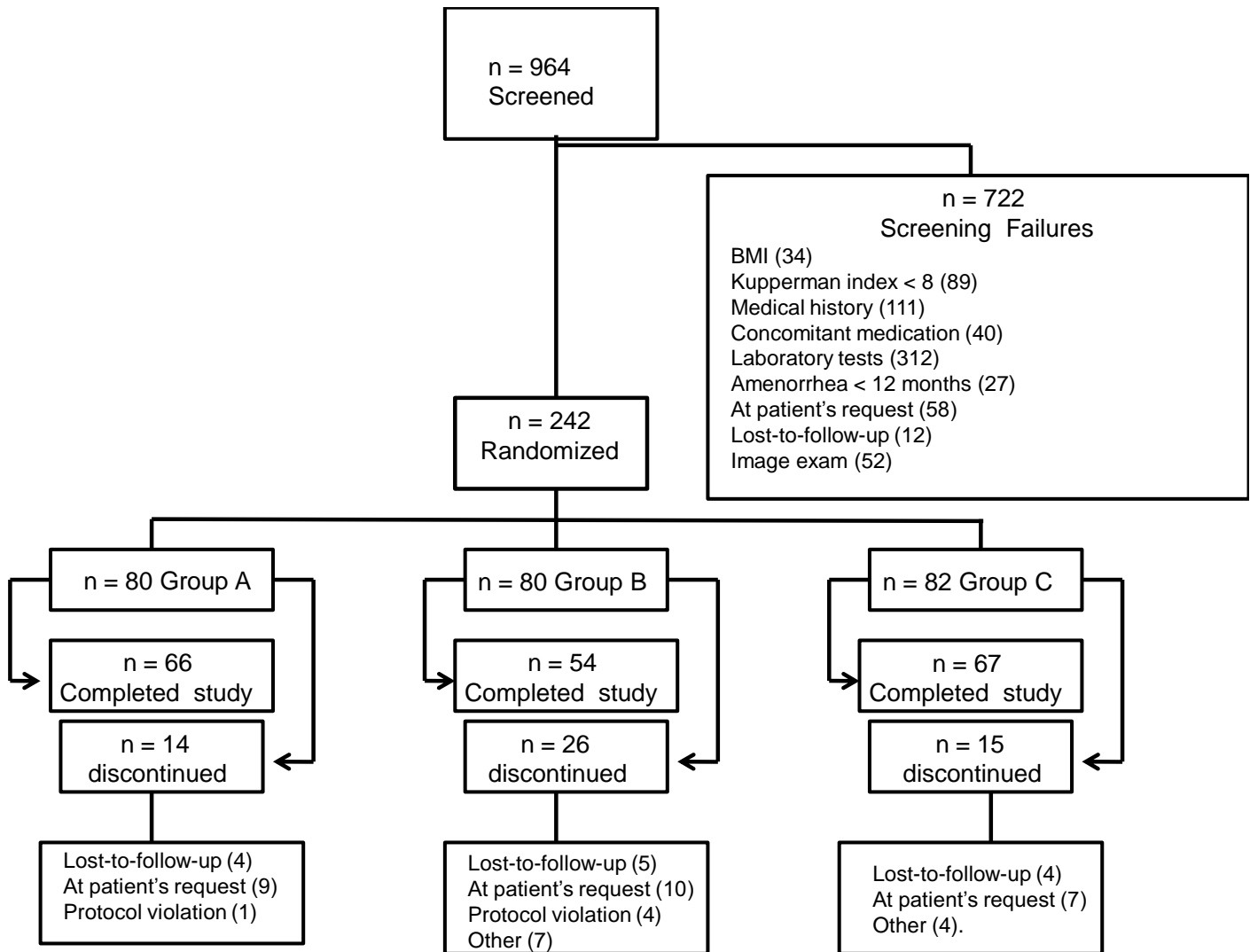
23. Ingelsson E, Schaefer EJ, Contois JH et al. Clinical utility of different lipid measures for prediction of coronary heart disease in men and women. *JAMA* 2007; 298:776-85.

24. Al-Azzawi F, Wahab M, Sami S et al. Randomized trial of effects of estradiol in combination with either norethisterone acetate or trimegestone on lipids and lipoproteins in postmenopausal women. *Climacteric.* 2004; 7:292-300.

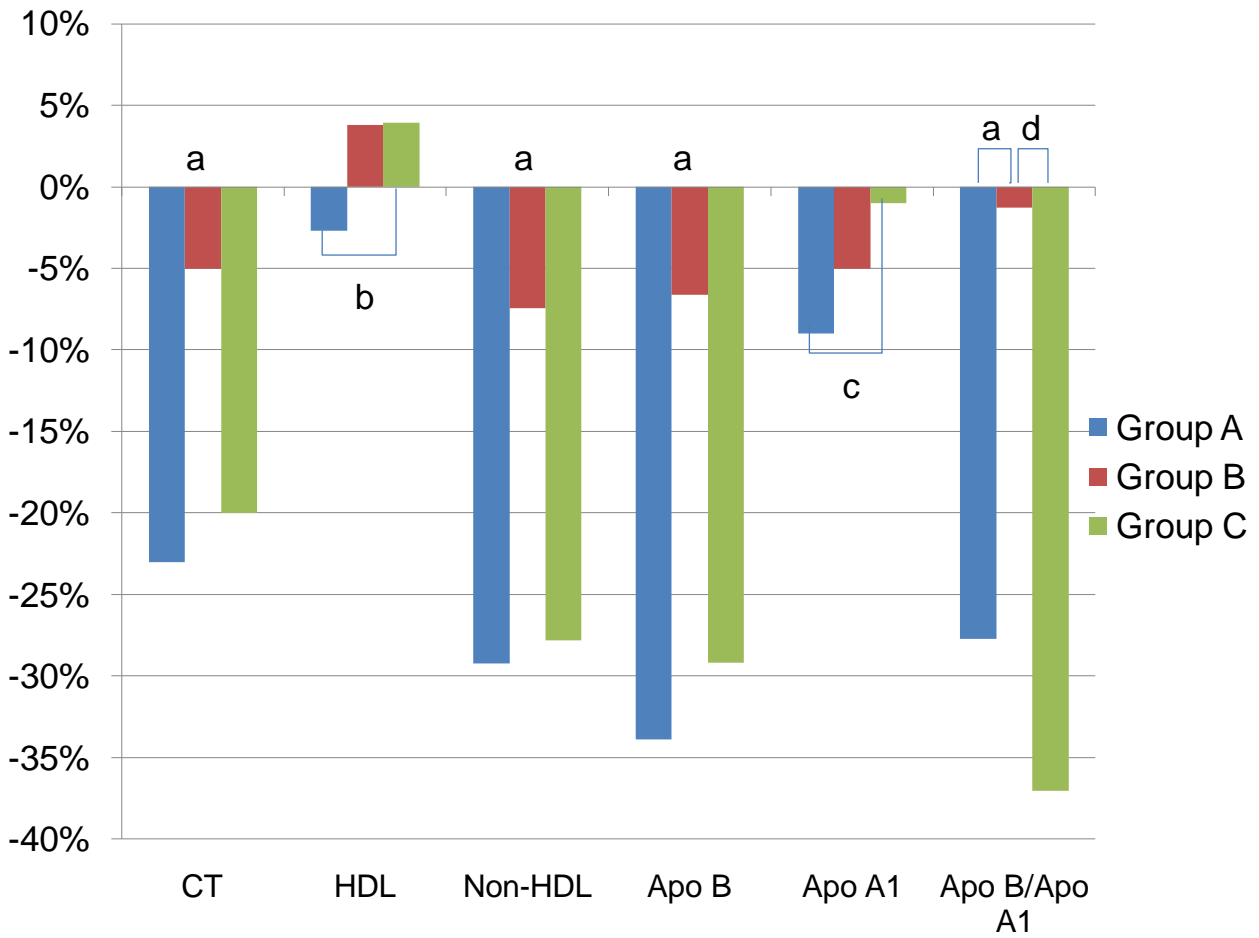
25. Maclennan AH, Broadbent JL, Lester S, Moore V. Oral oestrogen and combined oestrogen/progestogen therapy versus placebo for hot flushes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004; (4):CD002978.

# FIGURES

Figure 1: Flowchart of patients in the study.



**Figure 2:** Final versus baseline variations in TC, HDL-C, non-HDL cholesterol, Apo-B, Apo-A1 and Apo-B/Apo-A1 ratio for each treatment group.



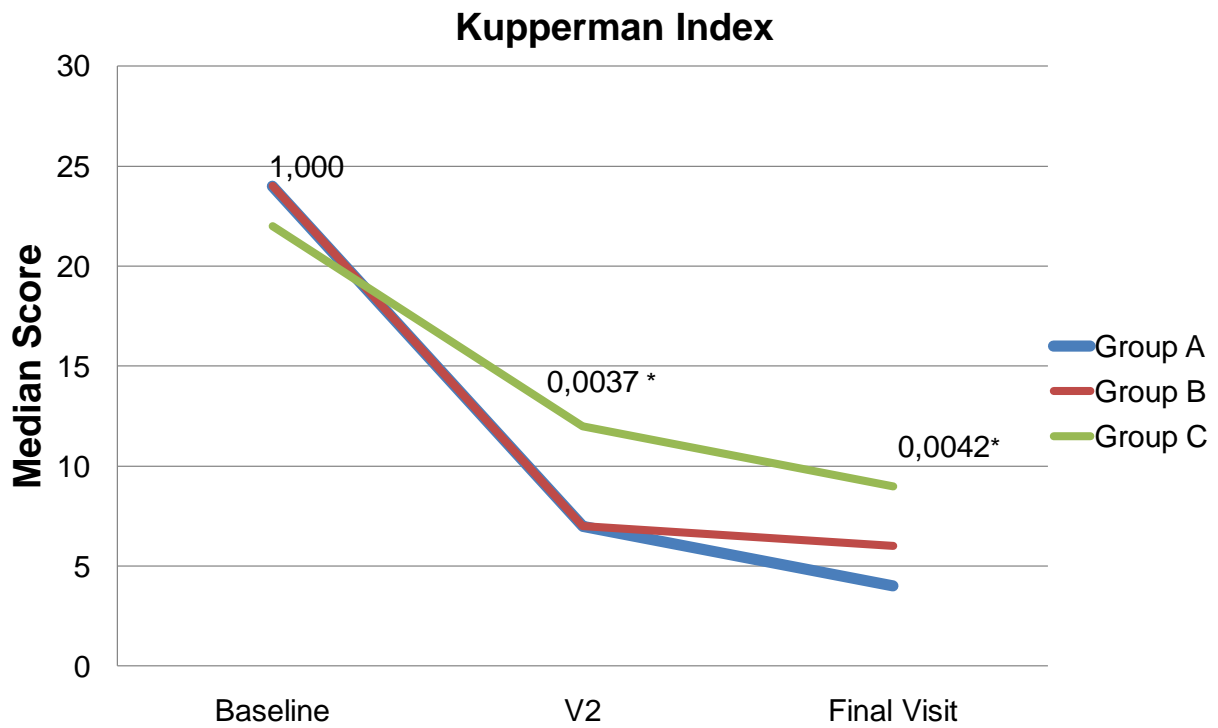
a: Group A versus Group B and Group B versus Group C,  $p < 0.0001$ , and Group A versus Group C, not significant.

b: Group A versus Group C,  $p = 0.0233$ .

c: Group A versus Group C,  $p = 0.0231$ .

d: Group B versus Group C,  $p = 0.0055$ .

**Figure 3:** Evaluation of the KI throughout the study in the different groups. The numbers at each point correspond to the p-value for the comparison between the three groups.



\* Analysis of the groups using the chi-square test.

**Table 1:** Baseline clinical and laboratory characteristics of the three treatment groups.

Variable	Groups			p-value
	A (n=80)	B (n=80)	C (n=82)	
Age (years)	Mean ± SD 55 ±5	Mean ± SD 55 ±5	Mean ± SD 56 ±5	0.5829
Weight (kg)	67.2 ± 10.6	68.1 ± 10.6	66.7 ± 10.4	0.4647
Height (cm)	154 ± 7	156 ± 7	154 ± 6	0.2699
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.2 ± 3.6	28.0 ± 3.5	28.0 ± 4.0	0.7244
Waist circumference (cm)	98.2 ± 9.5	97.2 ± 9.5	96.6 ± 9.8	0.3226
TG (mg/dl)	140.1 ± 53.4	152 ± 77.5	138.9 ± 58.3	0.3284
TC (mg/dl)	233.2 ± 29	234.0 ± 31.2	234.6 ± 23.7	0.9528
HDL-C (mg/dl)	55.6 ± 17.2	51.5 ± 11.8	55.0 ± 13.6	0.1525
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	177.6 ± 33.6	182.5 ± 33.3	179.5 ± 28.1	0.6174
LDL-C (mg/dl)	152 ± 27.0	151.5 ± 30.7	151.8 ± 27.7	0.983
Apo-A1 (mg/dl)	156.6 ± 32.8	157.2 ± 37.0	152.6 ± 34.8	0.6559
Apo-B (mg/dl)	125.0 ± 27.1	125.5 ± 32.2	119.7 ± 23.6	0.3392
Apo-B/ Apo-A1	0.83 ± 0.23	0.82 ± 0.24	0.89 ± 0.81	0.6192

**Table 2:** Lipid profile and laboratory cardiovascular risk markers at baseline and final visit.

Variable	Group	Baseline		Final		p-value
		Mean	± SD	Mean	± SD	
TG (mg/dl)	A	138.95	± 52.10	118.05	± 87.00	0.0965
	B	160.80	± 82.79	142.49	± 73.60	0.2271
	C	138.71	± 58.69	126.31	± 58.32	0.2219
TC (mg/dl)	A	236.51	± 23.35	182.16	± 45.31	<b>&lt;0.0001</b>
	B	233.36	± 34.70	221.61	± 38.72	0.0996
	C	236.34	± 22.88	187.89	± 32.57	<b>&lt;0.0001</b>
HDL-C (mg/dl)	A	54.35	± 13.86	52.88	± 14.53	0.5546
	B	52.07	± 10.88	54.03	± 12.79	0.3933
	C	54.53	± 12.59	56.66	± 13.10	0.3384
Non-HDL cholesterol (mg/dl)	A	182.16	± 24.64	128.93	± 42.80	<b>&lt;0.0001</b>
	B	181.29	± 36.48	167.81	± 42.96	0.0828
	C	181.81	± 25.52	131.23	± 35.09	<b>&lt;0.0001</b>
LDL- C(mg/dl)	A	154.42	± 23.81	107.20	± 40.72	<b>&lt;0.0001</b>
	B	149.18	± 31.53	140.48	± 39.57	0.2113
	C	154.05	± 23.73	105.94	± 34.16	<b>&lt;0.0001</b>
Apo-A1 (mg/dl)	A	156.53	± 33.14	142.62	± 22.49	<b>0.0055</b>
	B	156.41	± 36.07	148.07	± 26.66	0.1750
	C	153.48	± 36.74	151.97	± 21.99	0.7737
Apo-B (mg/dl)	A	125.12	± 27.31	82.73	± 25.41	<b>&lt;0.0001</b>
	B	124.41	± 30.44	116.15	± 29.56	0.1555
	C	121.49	± 24.60	86.04	± 22.44	<b>&lt;0.0001</b>
Apo-B/ Apo-A1	A	0.83	± 0.23	0.60	± 0.23	<b>&lt;0.0001</b>
	B	0.82	± 0.24	0.81	± 0.25	0.8215
	C	0.92	± 0.89	0.58	± 0.18	<b>0.0026</b>

**Table 3:** Comparison of the variations in lipid profiles and cardiovascular risk markers between the groups.

Variable	Group	Mean Variation mg/dL	SD mg/dL	ANOVA			
				A vs B	B vs C	A vs C	B vs C
<b>TG (mg/dl)</b>	A	-20.90	73.86				
	B	-18.31	61.97	0.7460		0.8381	0.4641
	C	-12.85	59.13				0.5927
<b>TC (mg/dl)</b>	A	-54.35	43.92				
	B	-11.75	27.84	<b>&lt;0.0001</b>		<b>&lt;0.0001</b>	0.3873
	C	-49.88	32.20				<b>&lt;0.0001</b>
<b>HDL (mg/dl)</b>	A	-2.27	12.35				
	B	0.97	11.08	0.0637		0.1375	<b>0.0233</b>
	C	2.39	9.46				0.5368
<b>Non-HDL cholesterol (mg/dl)</b>	A	-55.18	43.97				
	B	-16.59	35.86	<b>&lt;0.0001</b>		<b>&lt;0.0001</b>	0.5067
	C	-52.27	32.87				<b>&lt;0.0001</b>
<b>LDL (mg/dl)</b>	A	-48.85	42.98				
	B	-11.29	31.58	<b>&lt;0.0001</b>		<b>&lt;0.0001</b>	0.9136
	C	-49.71	33.16				<b>&lt;0.0001</b>
<b>Apo-A1 (mg/dl)</b>	A	-13.91	28.93				
	B	-8.33	27.47	0.0615		0.2851	<b>0.0231</b>
	C	-1.77	33.27				0.2267
<b>Apo-B (mg/dl)</b>	A	-42.39	28.58				
	B	-8.26	17.35	<b>&lt;0.0001</b>		<b>&lt;0.0001</b>	0.1605
	C	-36.92	25.64				<b>&lt;0.0001</b>
<b>Apo-B/A1</b>	A	-0.23	0.21				
	B	-0.01	0.14	<b>0.0032</b>		<b>&lt;0.0001</b>	0.3053
	C	-0.35	0.85				<b>0.0055</b>

#### 4. CONCLUSÕES

Em mulheres pós-menopáusicas e com dislipidemia, a associação de E2/NETA com sinvastatina mostrou:

- Alívio dos sintomas climatéricos semelhante à observada com a terapêutica estroprogestativa isolada.
- Melhora do perfil lipídico e lipoprotéico semelhante à observada com a terapêutica empregando a sinvastatina isoladamente.
- Melhora no tratamento simultâneo dos sintomas climatéricos e da dislipidemia.

A Terapia de Reposição Hormonal estroprogestativa sem a sinvastatina mostrou redução dos sintomas climatéricos, mas não apresentou melhora do perfil lipídico e lipoprotéico.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Speroff L, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 7<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
2. Z Yin. Cardiovascular diseases in American women. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases. 2010; 1-8.
3. Hayes SN. Preventing cardiovascular disease in women. Am Fam Physician. 2006; 74:1331-40.
4. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M e cols. Heart disease and stroke statistics 2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation. 2009; 119:480-6.
5. Fernandes EC, Neto JSLP, Geba OCE e cols. I Diretriz Brasileira sobre Prevenção de Doenças Cardiovasculares em Mulheres Climatéricas e a Influência da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e da Associação Brasileira do Climatério (SOBRAC). Arq Bras Cardiol. 2008; 91(1 supl.1):1-23.
6. Brasil. Ministério da Saúde disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/mortalidade2002.pdf>
7. Incidence and prevalence: 2006 Chart book on cardiovascular and lung diseases. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2006 dados do estudo Atherosclerosis Risk in Communities Cohort (ARIC).
8. Kannel WB e Wilson PW. Risk factors that attenuate the female coronary risk advantage. Arch Intern Med. 1995; 155:57– 61.
9. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ e cols. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. N Engl J Med. 1987; 316:1105– 10.
10. Atsma F, Bartelink MLEL, Grobbee DE e cols. Postmenopausal status and early menopause as independent risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis Menopause, Vol. 13, No. 2, 2006.
11. Xing D, Nozell S, Chen Y-F e cols. Estrogen and Mechanisms of Vascular Protection. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009; 29:289-95.

12. Grady D, Rubin SM, Petitti DB e cols. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 1992 Dec;117(12):1016-37.
13. Stampfer MH, Willett WC, Colditz GA e cols. A prospective study of postmenopausal estrogen therapy coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1985; 313:1044 –9.
14. Mosca L, Manson J.E, Sutherland S.E e cols. Cardiovascular disease in women. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1997; 96: 2468–82.
15. Rossouw J. E. Implications of Recent Clinical Trials of Postmenopausal Hormone Therapy for Management of Cardiovascular Disease *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006; 1089: 444–53.
16. Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC e cols. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease: 10 year follow-up from the Nurses' Health Study. *N Engl J Med.* 1991; 325:756 –62.
17. Hulley S, Grady D, Bush T e cols. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *JAMA.* 1998; 280:605– 13.
18. Writing Group for the Women's Health Initiative. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 2002; 288:321–33.
19. Grodstein F, Clarkson TB e Manson JE. Understanding the divergent data on postmenopausal hormone therapy. *N Engl J Med.* 2003; 348: 645–50.
20. Humphrey LL, Chan BKS e Sox HC. Postmenopausal therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med.* 2002; 137:273–84.
21. Rossouw JE, Prentice RL, Manson JE e cols. Postmenopausal Hormone Therapy and Risk of Cardiovascular Disease by Age and Years Since Menopause. *JAMA.* 2007; 297:1465-77.
22. Lobo RA, Bélisle S, Creasman WT e cols. Should Symptomatic Menopausal Women be offered hormone therapy? *MedGenMed.* 2006; 8(3):40.

23. Gold EB, Sternfeld B, Kelsey JL e cols. Relation of demographic and lifestyle factors to symptoms in a multi-racial / ethnic population of women 40–55 years of age. *Am J Epidemiol.* 2000; 152:463–73.
24. de Medeiros SF, de Medeiros MM, de Oliveira VN e cols. Climacteric complaints among very low-income women from a tropical region of Brazil. *Sao Paulo Med J.* 2006 Jul 6; 124(4):214-8.
25. Dennerstein L, Dudley EC, Hopper JL e cols. A prospective population-based study of menopausal symptoms. *Obstet Gynecol.* 2000; 96:351–8.
26. MacLennan AH, Broadbent JL, Lester S e Moore V. Oral oestrogen and combined oestrogen/progestogen therapy versus placebo for hot flushes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004; 18:CD0029786.
27. Nelson HD. Commonly Used Types of Postmenopausal Estrogen for Treatment of Hot Flashes: Scientific Review *JAMA.* 2004; 291(13):1610-20.
28. Ropero AB, Alonso-Magdalena P, Quesada I e Nadal A. The role of estrogen receptors in the control of energy and glucose homeostasis. *Steroids.* 2008; 73: 874–9.
29. Turgeon JL, Carr MC, Maki PM e cols. Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system, and brain: insights from basic science and clinical studies. *Endocr Rev.* 2006; 27: 575–605.
30. Riant, E. Waget A, Cogo H e cols. Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology.* 2009; 150: 2109–17.
31. Haas E, Bhattacharya I, Brailoiu E e cols. Regulatory role of G protein-coupled estrogen receptor for vascular function and obesity. *Circ. Res.* 2009;104: 288–91.
32. Walton C, Godsland IF, Proudler AJ e cols. The effects of the menopause on insulin sensitivity, secretion and elimination in non-obese, healthy women. *Eur J Clin Invest.* 1993; 23: 466-73.
33. Kriz–Silverstein D, Barrett–Connor E. Long-term postmenopausal hormone use, obesity, and fat distribution in older women. *JAMA.* 1996; 275: 46-9.

34. Haarbo J, Marslew U, Gotfredsen A e cols. Postmenopausal hormone replacement therapy prevents central distribution of body fat after menopause. *Metabolism*. 1991; 40:1323–26.
35. Andersson B, Mattsson LA, Hahn L e cols. Estrogen replacement therapy decreases hyperandrogenicity and improves glucose homeostasis and plasma lipids in postmenopausal women with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82:638–43.
36. Fischer M, Baessler A e Schunkert H. Renin angiotensinsystem and gender differences in the cardiovascularsystem. *Cardiovasc Res*. 2002; 53: 672-67.
37. Mendelsohn ME e Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science*. 2005; 308:1583-7.
38. Xing D, Miller A, Novak L e cols. Estradiol and progestins differentially modulate leukocyte infiltration after vascular injury. *Circulation*. 2004; 109:234-41.
39. Xing D, Nozell S, Chen Y-F e cols. Estrogen and mechanisms of vascular protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29: 289–95.
40. Losordo DW, Kearney M, Kim EA e cols. Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. *Circulation*. 1994; 89:1501–10.
41. Clarkson TB e Appt SE. Controversies about HRT - lessons from monkey models. *Maturitas*. 2005; 51: 64–74.
42. Hodis HN, Mack WJ, Lobo RA e cols. Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Ann Intern Med*. 2001; 135:939-53.
43. Lobo RA. Evaluation of cardiovascular event rates with hormone therapy in healthy, early postmenopausal women. Results from 2 large clinical trials. *Arch Intern Med*. 2004; 164:482-4.
44. Hodis HN, Mack WJ, Azen SP e cols. Hormone Therapy and the Progression of Coronary-Artery Atherosclerosis in Postmenopausal Women. *N Engl J Med*. 2003; 349:535-45.
45. Brown SA, Hutchinson R, Morrisett JD e cols. Plasma lipid, lipoprotein cholesterol and apoprotein distributions in selected US communities: the

- Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1139-58.
46. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M e cols. Heart disease and stroke statistics - 2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009; 119:480-6.
  47. Hyre AD, Muntner P, Menke A e cols. Trends in ATP-III defined high blood cholesterol prevalence, awareness, treatment and control among US adults. *Ann Epidemiol*. 2007; 17:548 e 55.
  48. Derby CA, Crawford SL, Pasternak RC e cols. Lipid changes during the menopause transition in relation to age and weight: the Study of Women's Health Across the Nation. *Am J Epidemiol*. 2009 Jun 1; 169(11):1352-61.
  49. Matthews KA, Crawford SL, Chae CU e cols. Are changes in cardiovascular disease risk factors in midlife women due to chronological aging or to the menopausal transition? *J Am Coll Cardiol*. 2009; 54:2366-73.
  50. Mobasser S, Liebson PR e Klein LW. Hormone therapy and selective estrogen receptor modulators for prevention of coronary heart disease in postmenopausal women estrogen replacement from the cardiologist's perspective. *Cardiol Rev*. 2004; 12:287-98.
  51. Bruner D, Weisbort J, Meshulam N e cols. Relation of serum total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol percentage to the incidence of definite coronary events: twenty-year follow-up of the Donolo-Tel Aviv Prospective Coronary Artery Disease Study. *Am J Cardiol*. 1987; 59:1271.
  52. Jacobs Jr DR, Mcbane IL, Bangdiwala SI e cols. High density lipoprotein cholesterol as a predictor of cardiovascular disease mortality in men and women : the follow-up study of the Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Am J Epidemiol*. 1990; 131:32.
  53. Kennel WB. Metabolic risk for coronary heart disease in women: perspective from the Framingham Study. *Am Heart J*. 1987; 114:413.
  54. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And

- Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001; 285:2486-97.
55. Hulley SB e Newman TB. Cholesterol in the elderly. Is it important? JAMA. 1994 Nov 2; 272(17):1372-4.
  56. Manolio TA, Pearson TA, Wenger NK e cols. Cholesterol and heart disease in older persons and women: review of an NHLBI workshop. Ann Epidemiol. 1992; 2:161–76.
  57. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet. 1994; 344:1383-9.
  58. LIPID RESEARCH CLINICS PROGRAM. The lipid research clinics coronary primary prevention trial results: II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. JAMA. 1984; 251:365-74.
  59. Knopp RH, Zhu X e Bonet B. Effects of estrogens on lipoprotein metabolism and cardiovascular disease in women. Atherosclerosis. 1994; 110 (Suppl.): S83-S91.
  60. Welty FK. Who should receive hormone replacement therapy? J Thromb Thrombol. 1996; 3:13–21.
  61. Campos H, McNamara JR, Wilson PWF e cols. Differences in low density lipoprotein subfractions and apolipoproteins in premenopausal and postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab. 1988; 67:30–5.
  62. Stevenson JC, Crook D e Godsland IF. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. Atherosclerosis. 1993; 98:83–90.
  63. Deroo BJ e Korach KS. Estrogen receptors and human disease. J Clin Invest. 2006; 116:561–70.
  64. Schnatz PF e Schnatz JD. Dyslipidemia in Menopause: Mechanisms and Management. Obstetrical and Gynecological Survey. 2006; 61(9): 608-13.
  65. Archer DF. Drospirenone-Containing Hormone Therapy for Postmenopausal Women. J Reprod Med. 2007; 52:159-64.
  66. Zegura B, Guzik-Salobir B, Webextjen M e Keber I. The effect of various menopausal hormone therapies on markers of inflammation, coagulation,

- fibrinolysis, lipids, and lipoproteins in healthy postmenopausal women. *Menopause*. 2006; 13( 4): 643-50.
67. McNamara JR e Schaefer EJ. Automated enzymatic standardized lipid analyses for plasma lipoprotein fractions. *Clin Chim Acta*. 1987; 166:1-8.
68. Srivastava RA. Estrogen-induced regulation of the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) in mice: a possible mechanism of atheroprotection by estrogen. *Mol Cell Biochem*. 1999; 240:67–73.
69. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) trial. *JAMA*. 1995; 273:199–208.
70. Nabulsi AA, Folsom AR, White A e cols. Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *N Engl J Med*. 1993; 328:1069-75.
71. Vitale C, Mendelsohn ME e Rosano GMC. Gender differences in the cardiovascular effect of sex hormones. *Nat Rev Cardiol*. 2009; 6:532-42.
72. Cignarella A, Kratz M e Bolego C. Emerging role of estrogen in the control of cardiometabolic disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2010; 31(4): 183-9.
73. LaROSA JC. Estrogen: risk versus benefit for the prevention of coronary artery disease. *Coronary Artery Disease*. 1993; 4:588-94.
74. Godsland IF, Manassiev NA, Felton CV e cols. Effects of low and high dose oestradiol and dydrogesterone therapy on insulin and lipoprotein metabolism in healthy postmenopausal women. *Clinical Endocrinology*. 2004; 60: 541–9.
75. Wakatsuki A, Ikenoue N e Sagara Y. Estrogen-induced small low-density lipoprotein particles in postmenopausal women. *Obstet Gynecol*. 1998; 91:234–40.
76. Wakatsuki A, Ikenoue N e Sagara Y. Effects of Estrogens on Suscetibility to oxidation of low-density and high density lipoprotein in postmenopausal women. *Maturitas*. 1998 Jan 12; 28(3):229-34.

77. Sack MN, Rader DJ e Cannon RO III. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet*. 1994; 343:269–70.
78. Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N e cols. Effect of lower dose of oral conjugated equine estrogen on size and oxidative susceptibility of low-density lipoprotein particles in postmenopausal women. *Circulation*. 2003; 108:808–13.
79. McManus J, McEneny J, Thompson W e cols. The effect of hormone replacement therapy on the oxidation of low density lipoprotein in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 1997; 135:73–81.
80. Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N e cols. Different Effects of Oral Conjugated Equine Estrogen and Transdermal Estrogen Replacement Therapy on Size and Oxidative Susceptibility of Low-Density Lipoprotein Particles in Postmenopausal Women. *Circulation*. 2002; 106:1771-6.
81. McManus J, McEneny J, Thompson W e Young IS. The effect of hormone replacement therapy on the oxidation of low density lipoprotein in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 1997; 135:73–81.
82. Kwang KK. Effects of estrogen on the vascular wall: vasomotor function and inflammation. *Cardiovascular Research*. 2002; 55: 714–26.
83. Lobo RA. Effects of hormonal replacement on lipids and lipoproteins in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 73:925-30.
84. Fernandes CE, Pompei LM, Machado RB e cols. Effects of estradiol and norethisterone on lipids, insulin resistance and carotid flow. *Maturitas*. 2008; 59: 249–58.
85. Miller VT, Muesing RA, LaRosa JC e cols. Effects of conjugated equine estrogen with and without three different progestogens on lipoproteins, high-density lipoprotein subfractions, and apolipoprotein A-I. *Obstet Gynecol*. 1991; 77:235-40.
86. Darling GM, Johns JA, Mcclaud PI e Davis SR. Estrogen and Progenstin compared with simvastatin for hypercholesterolemia in postmenopausal *N Engl J Med*. 1997; 337:595-601.
87. Vigna GB, Donegà P, Zanca R e cols. Simvastatin, transdermal patch, and oral estrogen-progestogen preparation in early-postmenopausal

- hypercholesterolemic women: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Metabolism*. 2002 Nov; 51(11):1463-70.
88. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady AS e cols. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*. 2001; 104:1108–13.
89. Herrington DM, Vittinghoff E, Lin F e cols. Statin therapy, cardiovascular events, and total mortality in the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS). *Circulation*. 2002; 105:2962–7.
90. Bray, PF Joseph C, Larson MS e cols. Usefulness of baseline lipids and C-reactive protein in women receiving menopausal hormone therapy as predictors of treatment-related coronary events. *Am J Cardiol*. 2008; 101:1599–605.
91. Umetani M, Domoto H, Gormley AK e cols. 27-Hydroxycholesterol is an endogenous SERM that inhibits the cardiovascular effects of estrogen. *Nat Med*. 2007; 13:1185–92.
92. DuSell CD e McDonnell DP. 27-Hydroxycholesterol: a potential endogenous regulator of estrogen receptor signaling. *Trends Pharmacol. Sci*. 2008; 29:510–4.
93. David W e Feely J. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Drug Interactions with HMG-CoA Redutase Inhibitors. *Clin Pharmacokinet*. 2002; 41 (5):343-70.
94. Klotz U. Pharmacological comparasion of the Statins *Arzmeinn-Forsh./Drug Res*. 2003; 53 (9):605-11.
95. Downs JR, Clearfield M, Weis S e cols. Primary prevention of acute coronary events with lavastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA*. 1998; 279:1615-22.
96. Herd JA, Ballantyne CM, Farmer JA e cols. Effects of fluvastatin on coronary atherosclerosis in patients with mild to moderate cholesterol elevations (Lipoprotein and Coronary Atherosclerosis Study [LCAS]). *Am J Cardiol*. 1997 Aug 1; 80(3):278-86.

97. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA e cols. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med.* 1996 Oct 3; 335(14):1001-9.
98. The long-term intervention with pravastatin in ischemic disease (LIPID) study group prevention of cardiovascular events and death with Pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med.* 1998; 339:1348-57.
99. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I e cols. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Nov 16; 333(20):1301-7.
100. LaRosa JC, He J e Vupputuri S. Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA.* 1999 Dec 22-29; 282(24):2340-6.
101. Laufs U, La Fata V, Plutzky J e cols. Upregulation of endothelial nitric oxide synthetase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.* 1998; 97(12):1129-35.
102. Yang Z, Kozai T, van der Loo B e cols. HMG-CoA reductase inhibition improves endothelial cell function and inhibits smooth muscle cell proliferation in human saphenous veins. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 36:1691-7.
103. Niwa S, Totsuka T, Hayashi S. Inhibitor effect of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on expression of adhesion molecules on human monocyte cell line. *Int J Immunopharmacol.* 1996; 18:669-75.
104. Aikawa M, Rabkin E, Sugiyama S e cols. An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases, and tissue factor in vivo and in vitro. *Circulation.* 2001; 103:276-383.
105. Schror K. Platelet reactivity and arachidonic acid metabolism in type II hypercholesterolemia and its modification by cholesterol-lowering agents. *Eicosanoids.* 1990; 3:67-73.
106. Darling GM, Johns JA, McCloud PI e cols. Concurrent use of simvastatin and estrogen--progestin therapy compared with each therapy

alone for hypercholesterolemia in postmenopausal women. *Climacteric*. 1999 Sep; 2(3):181-8.

107. Fak AS, Erenus M, Tezcan H, Caymaz O, Atagu"ndu" z P, Oktay S and Oktay A. Effects of simvastatin only or in combination with continuous combined hormone replacement therapy on serum lipid levels in hypercholesterolaemic post-menopausal women. *European Heart Journal*. 2000; 21:190–7.

## **6. ANEXOS**

### **A – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Data: 23 de Outubro de 2007

FORMULÁRIO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Nº 020/07

DATA DA APROVAÇÃO FINAL: 23 de Outubro de 2007.

TÍTULO DO PROTOCOLO: "Estudo clínico de fase III, unicêntrico, prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado e comparativo, visando avaliar segurança e eficácia do tratamento oral com associação ( Suprelle® (1mg estradiol + 0,5 mg noretisterona) e Vaslip® (20 mg sinvastatina) versus Suprelle® e placebo versus Vaslip® e placebo e Vaslip® em mulheres menopausadas"

Registro CEP: 0048/06

NOME DO INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. César Eduardo Fernandes

**APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Saúde e Bem-Estar da Mulher, no uso de suas atribuições, **APROVOU** o seguinte documento:

- ↳ Emenda BLO31 - versão de 02 de Outubro de 2007 ao Protocolo de Estudo Clínico BLO31 - versão 11 de Novembro de 2005,- que estabelece os níveis de triglicerídes

Dr. Diego Antonio Morato Mastrorocco  
Coordenador Adjunto do Comitê de  
Ética em Pesquisa do ISBEM

Recebido em 31/10/07  
Ana Carolina A. Nakada  
Coord. De Estudos Clínicos  
cep@isbem.com.br



## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Data: 27 de Novembro de 2007

FORMULÁRIO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA -  
Nº 022/2007

DATA DA APROVAÇÃO: 21 de Novembro de 2007

TÍTULO DO PROTOCOLO: "Estudo clínico de fase III, unicêntrico, prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado e comparativo, visando avaliar segurança e eficácia do tratamento oral com associação ( Suprelle® (1mg estradiol + 0,5 mg noretisterona) e Vaslip® (20 mg sinvastatina) versus Suprelle® e placebo versus Vaslip® e placebo e Vaslip® em mulheres menopausadas"

Registro CEP: 0048/06

NOME DO INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. César Eduardo Fernandes

### APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Saúde e Bem Estar da Mulher - ISBEM avaliou e aprovou, constando em ata, a **EMENDA AO PROTOCOLO BL 031 - VERSÃO DE 05 DE Novembro de 2007.**

Dr. Diogo Antonio Morato Mastrorocco  
Coordenador Adjunto do CEP-ISBEM

## B - LISTA DE RANDOMIZAÇÃO

Identificação:	
709820	Vaslip
709824	Placebo de Vaslip
709807	Suprelle
709826	Placebo de Suprelle

### Lista de Randomização (1/2)

1	709820 / 709807	41	709820 / 709807	81	709820 / 709807
2	709820 / 709826	42	709820 / 709807	82	709820 / 709807
3	709820 / 709826	43	709820 / 709826	83	709820 / 709826
4	709820 / 709826	44	709824 / 709807	84	709820 / 709826
5	709824 / 709807	45	709820 / 709807	85	709824 / 709807
6	709820 / 709826	46	709820 / 709807	86	709820 / 709807
7	709824 / 709807	47	709820 / 709826	87	709824 / 709807
8	709820 / 709807	48	709820 / 709826	88	709824 / 709807
9	709824 / 709807	49	709820 / 709807	89	709820 / 709826
10	709820 / 709826	50	709820 / 709826	90	709820 / 709807
11	709824 / 709807	51	709824 / 709807	91	709824 / 709807
12	709820 / 709807	52	709820 / 709807	92	709824 / 709807
13	709824 / 709807	53	709820 / 709826	93	709820 / 709807
14	709820 / 709807	54	709824 / 709807	94	709820 / 709826
15	709820 / 709826	55	709820 / 709807	95	709820 / 709807
16	709824 / 709807	56	709820 / 709807	96	709820 / 709807

17	709820 / 709807	57	709824 / 709807	97	709820 / 709807
18	709820 / 709826	58	709820 / 709807	98	709824 / 709807
19	709820 / 709807	59	709824 / 709807	99	709820 / 709826
20	709820 / 709807	60	709824 / 709807	100	709824 / 709807
21	709824 / 709807	61	709820 / 709807	101	709824 / 709807
22	709820 / 709826	62	709820 / 709826	102	709820 / 709807
23	709820 / 709807	63	709820 / 709826	103	709820 / 709826
24	709820 / 709826	64	709824 / 709807	104	709824 / 709807
25	709820 / 709826	65	709820 / 709826	105	709820 / 709826
26	709820 / 709807	66	709824 / 709807	106	709820 / 709826
27	709820 / 709807	67	709820 / 709807	107	709820 / 709807
28	709824 / 709807	68	709824 / 709807	108	709820 / 709826
29	709820 / 709807	69	709824 / 709807	109	709820 / 709807
30	709820 / 709826	70	709820 / 709807	110	709820 / 709807
31	709824 / 709807	71	709820 / 709807	111	709824 / 709807
32	709824 / 709807	72	709820 / 709826	112	709824 / 709807
33	709824 / 709807	73	709824 / 709807	113	709820 / 709826
34	709820 / 709826	74	709820 / 709826	114	709824 / 709807
35	709824 / 709807	75	709820 / 709807	115	709820 / 709807
36	709820 / 709826	76	709820 / 709826	116	709820 / 709826
37	709824 / 709807	77	709824 / 709807	117	709820 / 709807
38	709824 / 709807	78	709820 / 709807	118	709820 / 709826
39	709820 / 709826	79	709820 / 709826	119	709820 / 709807
40	709824 / 709807	80	709824 / 709807	120	709824 / 709807

### Lista de Randomização (2/2)

121	709824 / 709807	161	709820 / 709826	201	709820 / 709826
122	709824 / 709807	162	709820 / 709826	202	709820 / 709807
123	709820 / 709807	163	709820 / 709826	203	709824 / 709807
124	709820 / 709807	164	709820 / 709826	204	709820 / 709807
125	709820 / 709807	165	709820 / 709826	205	709820 / 709826
126	709824 / 709807	166	709820 / 709807	206	709820 / 709826
127	709820 / 709826	167	709824 / 709807	207	709824 / 709807
128	709820 / 709826	168	709824 / 709807	208	709820 / 709826
129	709824 / 709807	169	709820 / 709807	209	709820 / 709826
130	709820 / 709826	170	709820 / 709826	210	709824 / 709807
131	709820 / 709807	171	709824 / 709807	211	709824 / 709807
132	709820 / 709826	172	709820 / 709807	212	709820 / 709807
133	709820 / 709826	173	709820 / 709807	213	709820 / 709826
134	709820 / 709826	174	709820 / 709807	214	709820 / 709826
135	709820 / 709807	175	709824 / 709807	215	709820 / 709826
136	709820 / 709807	176	709824 / 709807	216	709820 / 709826
137	709824 / 709807	177	709824 / 709807	217	709820 / 709807
138	709820 / 709826	178	709820 / 709826	218	709820 / 709826
139	709820 / 709807	179	709820 / 709826	219	709824 / 709807
140	709820 / 709807	180	709824 / 709807	220	709820 / 709826
141	709820 / 709807	181	709820 / 709807	221	709824 / 709807
142	709820 / 709826	182	709820 / 709807	222	709824 / 709807

143	709820 / 709826	183	709824 / 709807	223	709820 / 709807
144	709824 / 709807	184	709820 / 709807	224	709820 / 709826
145	709824 / 709807	185	709820 / 709826	225	709820 / 709826
146	709820 / 709826	186	709824 / 709807	226	709824 / 709807
147	709820 / 709807	187	709820 / 709807	227	709820 / 709807
148	709820 / 709826	188	709824 / 709807	228	709820 / 709807
149	709820 / 709826	189	709820 / 709826	229	709820 / 709807
150	709824 / 709807	190	709820 / 709807	230	709820 / 709826
151	709824 / 709807	191	709824 / 709807	231	709820 / 709826
152	709820 / 709826	192	709820 / 709826	232	709820 / 709826
153	709820 / 709807	193	709820 / 709807	233	709824 / 709807
154	709824 / 709807	194	709820 / 709807	234	709824 / 709807
155	709820 / 709807	195	709824 / 709807	235	709820 / 709807
156	709820 / 709807	196	709824 / 709807	236	709820 / 709826
157	709824 / 709807	197	709820 / 709807	237	709820 / 709807
158	709824 / 709807	198	709824 / 709807	238	709824 / 709807
159	709824 / 709807	199	709820 / 709807	239	709820 / 709807
160	709820 / 709826	200	709824 / 709807	240	709820 / 709826

OBS: A partir da paciente 241, a sequência de randomização retorna ao número 1 desta lista.

## C – SUBMISSÃO À “CLIMACTERIC”

**Climacteric** **informa** healthcare **SCHOLARONE™** Manuscripts

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Marcelo Steiner

### Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Climacteric*.

Manuscript ID: DCLI-2011-0016

Title: Low-dose hormone therapy with or without simvastatin in dyslipidemic menopausal women

Authors: Steiner, Marcelo  
Strufaldi, Rodolfo  
Porto, Everaldo  
Pompei, Luciano  
Fernandes, Cesar

Date Submitted: 06-Feb-2011