

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDOCRINOLOGIA GINECOLÓGICA

**TERAPIA HORMONAL: EFEITOS SOBRE MARCADORES DE
RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR EM MULHERES
PÓS-MENOPÁUSICAS COM DIABETE MELITO TIPO 2.**

Suzana Cardona Lago

Porto Alegre, Dezembro de 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDOCRINOLOGIA GINECOLÓGICA

**TERAPIA HORMONAL: EFEITOS SOBRE MARCADORES DE
RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR EM MULHERES
PÓS-MENOPÁUSICAS COM DIABETE MELITO TIPO 2.**

Suzana Cardona Lago

Dissertação apresentada à UFRGS –
Faculdade de Medicina – programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas:
Endocrinologia, para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof^ª. Dra. Poli Mara Spritzer - UFRGS

Co-Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Celeste Osório Wender - UFRGS

Porto Alegre, Dezembro de 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDOCRINOLOGIA GINECOLÓGICA

Esta Dissertação de Mestrado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da UFRGS, sendo apresentada na forma de 2 manuscritos sobre o tema da Dissertação:

- **Artigo de revisão geral do tema**, que deverá ser submetido para publicação em periódico científico nacional;
- **Artigo original referente ao trabalho de pesquisa** propriamente dito, que deverá ser submetido para publicação em periódico científico de circulação internacional.

Os estudos avaliando o impacto do uso de 17 β estradiol transdérmico e progesterona micronizada VO seqüencial, demonstraram ausência de efeitos deste regime sobre os níveis de pressão arterial, perfil lipídico, e controle glicêmico. Há poucos estudos sistemáticos avaliando o impacto desta combinação sobre outros importantes fatores de risco cardiovascular não-clássicos, tais como os marcadores inflamatórios. Estes aspectos são revisados criticamente no artigo de revisão.

No artigo original que se segue objetivou-se avaliar, a partir de estudo-piloto, os efeitos de um regime específico contendo 50µg/dia de 17βestradiol gel transdérmico contínuo + 200mg/dia de progesterona micronizada oral (usada do dia 1-14 do mês), sobre fatores de risco cardiovascular clássicos (pressão arterial, perfil lipídico, glicemia, HbA1C) e não-clássicos (PCRas, homocisteína, LP(a)) em mulheres DM2 pós-menopáusicas.

Porto Alegre, Dezembro de 2005.

Sumário

	Página
Lista de abreviaturas	3
Artigo de revisão geral do tema	
TRATAMENTO HORMONAL DA MENOPAUSA EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2: REVISÃO DA LITERATURA QUANTO AO USO DA VIA ORAL OU TRANSDÉRMICA.....	5
Resumo	7
Introdução	9
Aspectos gerais do climatério	9
Sintomas climatéricos	9
Doença cardiovascular e menopausa.....	10
Expectativa de vida	
Prevalência de doença cardiovascular	
Doença cardiovascular no gênero feminino: correlação hormonal	
Terapia Hormonal usando Estrógeno e Progestágeno (TEP)	
Perfil atual da mulher climatérica	
Diabete Melito Tipo 2 e menopausa.....	12
Diabete Melito Tipo 2 e TEP	
Fatores de risco clássicos e não-clássicos de doença cardiovascular.....	
Via oral vs transdérmica na TEP da mulher pós-menopáusicas com DM2.....	14
TEP oral vs transdérmica e fatores de risco de doença cardiovascular	
TEP via oral em mulheres pós-menopáusicas com DM2	
TEP via transdérmica em mulheres com DM2	
Análise final: TEP em mulheres pós-menopáusicas com DM2	
Conclusão	17
Tabelas	20
Referências	24
Artigo original referente ao trabalho de pesquisa	
HORMONAL THERAPY: THE EFFECT ON CARDIOVASCULAR RISK FACTORS AMONG DIABETIC POST MENOPAUSAL WOMEN.....	30
Abstract	32

Introduction	34
Methods	36
Participants.....	36
Study Protocol	37
Assay Methods.....	37
Statistical Analysis	38
Results	39
Discussion	40
References	44
Anexo I	
Consentimento Informado (versão em inglês).....	53

Lista de Abreviaturas

TEP	Terapia Hormonal usando Estrógeno e Progestágeno
EEC	Estrógenos Eqüinos Conjugados
AMP	Acetato de Medroxiprogesterona
DCV	Doença Cardiovascular
DM2	Diabete Melito Tip 2
DM	Diabete Melito
17BE2	17 Beta Estradiol
NHANES III	The third National Health and Nutrition Examination Survey
PA	Pressão Arterial
PCRas	Proteína C Reativa de Alta Sensibilidade
LP(a)	Lipoproteína(a)
WHI	Women's Health Initiative
PM	Pós-menopáusica
IG	Tolerância diminuída à glicose
Dx Angio	Diagnosticada por angiografia
ANET	Acetato de noretisterona
NET	Noretisterona
cc	Regime contínuo combinado
seq	Regime seqüencial
PÁs	Pressão arterial sistólica
PAd	Pressão arterial diastólica

CT	Colesterol total
TG	Triglicerídeos
DHG	Didrogesterona
Flow-med dilat	Dilatação mediada
PM	Progesterona micronizada

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDOCRINOLOGIA GINECOLÓGICA

Artigo de revisão geral do tema

**TRATAMENTO HORMONAL DA MENOPAUSA EM PACIENTES COM
DIABETE MELITO TIPO 2: REVISÃO DA LITERATURA QUANTO AO USO DA
VIA ORAL OU TRANSDÉRMICA.**

Porto Alegre, Dezembro de 2005.

**TRATAMENTO HORMONAL DA MENOPAUSA EM PACIENTES COM
DIABETE MELITO TIPO 2: REVISÃO DA LITERATURA QUANTO AO USO DA
VIA ORAL OU TRANSDÉRMICA.**

¹Suzana Lago, ²Maria Celeste Osório Wender, ^{1,3}Poli Mara Spritzer

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Endocrinologia, UFRGS;
²Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, UFRGS; ³Unidade
de Endocrinologia Ginecológica, Serviço de Endocrinologia, HCPA e Departamento de
Fisiologia, UFRGS

Correspondência para:
Dra. Suzana Lago
Avenida Goethe 16, 504.
Porto Alegre, RS, Brasil.
CEP 90430-100
suzanalago@dualnet.com.br
Fone: 51 3333 9965, 9226 5239.

Porto Alegre, Dezembro de 2005.

Resumo

O climatério afeta significativamente a vida de milhares de mulheres ao redor do mundo. A evolução do conhecimento em relação à segurança das opções medicamentosas utilizadas para manejo de seus sintomas se faz essencial no atual momento.

A terapia hormonal usando estrógeno e progestágeno (TEP) tem sido amplamente prescrita para o manejo dos sintomas climatéricos. O uso da TEP foi recomendado no passado também com o objetivo de prevenção de doença cardiovascular. Porém, ensaios clínicos randomizados recentes falharam em comprovar os benefícios cardiovasculares do regime de TEP mais comumente utilizado (EEC 0.625mg + AMP 2.5mg /dia), tendo também sugerido que este regime está associado a significativo aumento de risco cardiovascular.

A doença cardiovascular é a principal causa de mortalidade em países ditos desenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil. Atualmente, mulheres brasileiras com faixa etária entre 50-59 anos apresentam taxa de mortalidade por DCV de 36%, aumentando este percentual gradativamente nas décadas que se seguem (60-69 anos = 40%, ≥70 anos = 46%). A população de mulheres pós-menopáusicas com Diabetes Mellito Tipo 2 (DM2) também vem crescendo significativamente em todo o mundo. O Brasil é um dos 10 países do mundo que apresentará o maior número de pessoas com diagnóstico de DM em 2025. A maioria desta população será de mulheres, moradoras de áreas urbanas, com idade entre 45-64 anos.

Desta forma, mulheres pós-menopáusicas com DM2 representam um percentual significativo da população, e sabidamente apresentam risco cardiovascular aumentado.

Além de ser um grupo de alto risco cardiovascular, estas mulheres frequentemente necessitam manejo medicamentoso dos sintomas climatéricos.

Este estudo visa revisar a literatura existente sobre o uso de TEP em mulheres pós-menopáusicas com DM2, analisando o impacto das diversas combinações sobre marcadores de risco de doença cardiovascular clássicos e não-clássicos.

Palavras-Chaves: Menopausa, Terapia Hormonal, Diabete Melito Tipo 2, Doença Cardiovascular, Fatores de Risco.

Abstract

The menopause has significant impact on thousands of women worldwide. The safety of pharmacological options in the management of menopause symptoms is an essential area of research and development.

The hormonal therapy by means of estrogen and progestogen (EPT) has been widely prescribed to manage menopausal symptoms. The use of EPT had been also recommended in the past to prevent cardiovascular disease. However, recent large-scale randomized clinical trials have not only shown no cardiovascular benefit, but also have demonstrated that it is associated with significant increase in cardiovascular risk, at least with the most used regimen (CEE 0.625mg+MPA 2.5mg/day).

Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of death in developed world and in developing countries such as Brazil. Brazilian women, who are currently in the 50-59 age range, are expected to have a CVD mortality rate of 36%, with gradual increase in risk in the following decades (60-69 years-old = 40%, ≥ 70 years-old = 46%). The post-menopausal diabetic women population has also grown significantly worldwide. Brazil is one of the 10 countries in the world that will have the largest population of diabetics by 2025. The majority of this population will be female, living in urban areas and between 45 and 64 years-old. Therefore, post-menopausal diabetic women will represent a

significant percentage of people, who knowingly have increased cardiovascular risk, these women frequently need medical management of their menopause symptoms.

The aim of this study is to review the existing literature on EPT in post-menopausal diabetic women, analyzing the impact of several regimens over classic and non-classic CVD risk factors.

Key-words: Menopause, Hormone Therapy, Estrogen-Progestogen Therapy, Diabetes Mellitus, Cardiovascular Disease, Risk Factors.

Aspectos Gerais do Climatério

O climatério afeta significativamente a vida de milhares de mulheres ao redor do mundo. A evolução do conhecimento em relação à segurança das opções medicamentosas utilizadas para manejo de seus sintomas se faz essencial no atual momento do conhecimento.

A terapia hormonal usando estrógeno e progestágeno (TEP) tem sido amplamente prescrita para o manejo dos sintomas climatéricos. Os compostos estrogênicos estão disponíveis desde 1930, e foram usados inicialmente para este fim. Sempre houve preocupação quanto ao risco do estímulo endometrial associado ao uso de estrógeno isoladamente. Até 1975 os estudos sugeriam apenas um pequeno aumento de risco de câncer de endométrio associado ao uso de estrógeno em mulheres pós-menopáusicas, quando então estudos epidemiológicos passaram a apontar significativos riscos associados a este uso. A partir deste momento, passou-se a recomendar o uso combinado de estrógeno e progestágeno em mulheres não-histerectomizadas (1).

Sintomas climatéricos

O climatério é um período caracterizado por mudanças fisiológicas e psico-sociais na vida da mulher. Os sintomas climatéricos são decorrentes da deficiência na secreção de estradiol relacionada com a depleção dos folículos ovarianos no período climatérico e, especialmente, após a menopausa. O declínio na produção de estradiol pode levar a: alterações vasomotoras, diminuição da massa óssea, sinais e sintomas associados com a atrofia urogenital, alterações no fluxo menstrual em mulheres perimenopáusicas, estresse psicológico, distúrbios afetivos e cognitivos (2). Sua intensidade e persistência no tempo

é variável e está relacionada com fatores individuais e populacionais. Assim, os sintomas climatéricos são descritos em todas as regiões do mundo, sendo a associação entre as mudanças hormonais e a sintomatologia climatérica complexa e também influenciada por fatores sócio-culturais (3).

As alterações vasomotoras são, dentre os diversos sintomas climatéricos, os de maior frequência. Entre 65% e 75% das mulheres apresentam sintomas vasomotores, sendo que até 80% vão permanecer com esta queixa por mais de 1 ano (4). Os sintomas vasomotores podem comprometer significativamente a qualidade de vida de mulheres climatéricas (2), tendo correlação com condições tais como: distúrbios do sono, alteração de humor, déficit cognitivo, comprometimento do convívio social, dificuldades no trabalho, vergonha, ansiedade e cansaço (5).

Doença cardiovascular e menopausa

A expectativa de vida das mulheres está aumentando em todo o mundo. No Brasil, a expectativa de vida gira em torno dos 73 anos. Esta realidade faz com que mulheres brasileiras com idade entre 50-59 anos apresentem expectativa de vida de 30 anos (6). Isto também torna mais relevante a preocupação com a qualidade de vida das mulheres neste período e, em consequência, com o manejo clínico dos sintomas climatéricos e suas possíveis consequências.

A literatura relata um aumento da prevalência de eventos cardiovasculares nas mulheres a partir da menopausa, igualando-se ao índice masculino por volta dos 75 anos. Alguns estudos reforçam a hipótese que pressupõe proteção cardíaca conferida pela função ovariana, relatando aumento do risco de DCV em situações de menopausa

precoce. A deprivação estrogênica está associada à piora de fatores de risco cardiovascular tais como perfil lipídico, elasticidade aórtica, descenso noturno da pressão arterial, remodelamento e contratilidade do ventrículo esquerdo.

Apesar desta evidência, a menopausa natural parece ter pequeno efeito imediato na pressão arterial, na tolerância à glicose, nos níveis de insulina, no peso corporal, e no nível de atividade física. Além deste efeito ser pequeno, não se sabe claramente quanto dele pode ser atribuível ao próprio processo de envelhecimento (7).

Nesse sentido, o uso da TEP foi recomendado no passado também com o objetivo de prevenção de doença cardiovascular. Grandes estudos observacionais relataram proteção cardiovascular significativa associada ao uso de TEP (8). Porém, ensaios clínicos randomizados recentes, desenhados com o objetivo de testar a prevenção primária (9) e secundária (10-12) de doença cardiovascular, falharam em comprovar os benefícios cardiovasculares do regime de TEP mais comumente utilizado (EEC 0.625mg + AMP 2.5mg /dia), tendo também sugerido que este regime está associado a significativo aumento de risco cardiovascular. Este aumento de risco pode apresentar conseqüências graves uma vez que a doença cardiovascular é, em termos proporcionais, a principal causa de mortalidade em países desenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil (13).

Atualmente, mulheres brasileiras com faixa etária entre 50-59 anos apresentam taxa de mortalidade por DCV de 36%, aumentando este percentual gradativamente nas décadas que se seguem (60-69 anos = 40%, ≥ 70 anos = 46%) (14).

Um outro aspecto a ser considerado neste contexto é a mudança mundial no perfil da mulher climatérica. Além das mulheres estarem vivendo mais, elas também têm se

mantido produtivas por mais tempo e tem aumentado o cuidado com sua saúde e qualidade de vida (15). São necessárias, portanto, opções efetivas e seguras para o manejo dos sintomas climatéricos. A TEP é uma das opções terapêuticas disponíveis para este fim. Atualmente dispomos de diversas combinações estro-progestogênicas que podem ser usadas durante este período. Porém, o conhecimento sobre o funcionamento e as diferenças de impacto destas apresenta grande disparidade; havendo alguns regimes que são muito estudados (EEC + AMP via oral) e outros (17 Beta Estradiol (17BE2) transdérmico) que somente na última década passaram a ser avaliados com maior ênfase.

Diabete Melito tipo 2 e menopausa

O Diabete Melito (DM) é uma das doenças crônicas mais prevalentes no mundo, e nas últimas décadas vem emergindo como uma pandemia.(16). A população de mulheres pós-menopáusicas com Diabete Melito Tipo 2 (DM2) também vem crescendo significativamente em todo o mundo em consequência do aumento progressivo da população de obesos (17). Estudos brasileiros também apontam para aumento progressivo da prevalência de obesidade em nossa população, identificando mais de 12% da população feminina adulta brasileira com obesidade (18).

O Brasil encontra-se entre os 10 países do mundo que apresentará o maior número de pessoas com diagnóstico de DM em 2025. A prevalência de DM2 em adultos passou de 5.2% em 1995, para 5.5% em 2000, e tem previsão de atingir 7.2% em 2025. A maioria desta população será de mulheres, moradoras de áreas urbanas, com idade entre 45-64 anos. Estes índices se igualam aos de países desenvolvidos (19).

À medida que as mulheres envelhecem, sua chance de desenvolver DM2 aumenta. Por volta de 12.5% das mulheres entre 50 - 59 anos apresentam DM2, com prevalência aumentando para 17 a 18% a partir dos 60 anos (20).

Desta forma, mulheres pós-menopáusicas com DM2 representam um percentual significativo da população, e sabidamente apresentam risco cardiovascular aumentado (21; 16). Além de ser um grupo de alto risco cardiovascular, estas mulheres freqüentemente necessitam manejo medicamentoso dos sintomas climatéricos.

As pacientes pós-menopáusicas com DM2 parecem se beneficiar igualmente, do ponto de vista do alívio de sintomas, do uso de TEP. No entanto a literatura relata menores taxas de prescrição desta terapia para este grupo (22;24).

Alguns estudos relatam diminuição da incidência de DM associada ao uso de diferentes regimes de TEP (25;26). Além disso, grandes coortes como *NHANES* e *Kaiser Permanente* relatam melhora do controle glicêmico e do perfil lipídico entre mulheres pós-menopáusicas com DM usuárias de TEP (27;28).

Apesar destas evidências sugerirem um efeito positivo do uso da TEP em mulheres pós-menopáusicas com DM2, ainda não estão disponíveis ensaios clínicos randomizados e com poder suficiente para avaliar o seu real impacto no risco de eventos cardiovasculares neste grupo específico de mulheres.

É bem conhecido que o controle intensivo da glicemia e da hipertensão estão associados com a redução no número de eventos cardiovasculares e na mortalidade em diabéticos (29;30). Até que as evidências científicas tornem-se mais consistentes com respeito ao impacto da TEP sobre risco cardiovascular em mulheres pós-menopáusicas com DM2, parece mais adequado que se dê preferência pelo uso de regimes de TEP que

apresentem respostas clínicas com um padrão mais neutro e seguro sobre parâmetros tais como pressão arterial e controle glicêmico.

Além de analisarmos os efeitos do uso da TEP sobre fatores de risco clássicos para doença cardiovascular (pressão arterial (PA), perfil lipídico, e controle glicêmico) se faz extremamente importante também avaliarmos o seu impacto sobre fatores de risco não-clássicos para doença cardiovascular. Estes são representados por um grupo de marcadores que agregam valor à estimativa de risco individual quando analisados em conjunto aos tradicionais fatores de risco cardiovascular, podendo assim acrescentar informação importante sobre o real impacto da TEP no risco cardiovascular. São eles: Proteína C Reativa de alta sensibilidade (PCRas), homocisteína, e lipoproteína (a) (LP(a)) (31).

Entre os fatores de risco cardiovascular não-clássicos, a PCRas é o que apresenta a correlação mais forte e independente com eventos cardiovasculares, sendo o mais importante dentre os marcadores inflamatórios (31;36).

Identificar o regime de TEP que apresente o menor risco quando usado para o manejo dos sintomas climatéricos na população de mulheres DM2 pós-menopáusicas é fato de vital importância. Para que esta análise seja feita de maneira abrangente, deve-se considerar, além da avaliação dos fatores de risco cardiovascular clássicos, a inclusão da análise dos fatores de risco cardiovascular não-clássicos.

Via oral versus via transdérmica na TEP da paciente pós-menopáusicas com DM2

Uma série de artigos demonstra efeitos opostos dos regimes de TEP oral e transdérmico em fatores de risco cardiovascular clássicos e não-clássicos.

Diferentes formulações e doses de estrogênio, rotas de administração, assim como tipo e duração do progestágeno concomitante podem ter diferentes efeitos em tais fatores de risco e marcadores.

A revisão sistemática da literatura avaliando “menopausa e diabetes” identifica 1081 artigos escritos desde 1959 a respeito deste tema. Dentre eles foram selecionados aqueles que avaliaram o impacto de regimes específicos de TEP sobre fatores de risco clássicos e não-clássicos de doença cardiovascular em mulheres pós-menopáusicas com DM2. Destes foram relacionados os estudos que tivessem avaliado pelo menos 3 dentre 4 fatores de risco (pressão arterial, perfil lipídico, controle glicêmico e marcadores inflamatórios – Proteína C Reativa de alta sensibilidade). Assim, foram identificados cinco estudos que avaliaram o impacto do uso da TEP por via oral sobre fatores de risco cardiovascular clássicos e não-clássicos entre mulheres pós-menopáusicas com DM2 (Tabela 1).

O conjunto dos resultados destes estudos sugere que a via oral causou aumento consistente e significativo dos níveis de PCRas nesta população, impacto que variou de 16 a 260%. Este achado vem ao encontro dos resultados do estudo WHI, já tendo este relatado aumento significativo de 32% nos níveis de PCRas associado ao uso da TEP via oral em mulheres pós-menopáusicas saudáveis (9).

Apesar da maioria destes artigos não terem mencionado o impacto do regime oral sobre os níveis de PA desta população (28;37-40), a literatura sugere que o uso desta via

está associado a aumento significativo nos níveis de PA em mulheres pós-menopáusicas saudáveis (9).

Em relação ao impacto da terapia oral sobre o perfil lipídico e controle glicêmico, os estudos analisados sinalizam para um impacto positivo sobre estes desfechos nesta população. Semelhante impacto benéfico já havia sido descrito em ensaios clínicos avaliando o uso de TEP via oral em pacientes saudáveis (9) e cardiopatas (11).

Apesar de um efeito benéfico sobre alguns fatores de risco clássicos de doença cardiovascular já ter sido descrito em ensaios clínicos realizados em população saudável e cardiopata (9;11), este efeito não se traduziu em diminuição de eventos cardiovasculares em nenhuma das populações, tendo estes estudos observado aumento na incidência de eventos cardiovasculares tanto entre mulheres pós-menopáusicas sem evidência de doença, como entre mulheres pós-menopáusicas cardiopatas usuárias de regime específico de TEP via oral.

Existe a possibilidade do aumento de eventos cardiovasculares observado nestes estudos estar correlacionado com o impacto negativo do uso da TEP via oral sobre fatores de risco tais como PCRas e PA. Esta possível correlação torna ainda mais relevante a inclusão da análise dos fatores de risco não-clássicos em estudos avaliando impacto de diferentes regimes de TEP.

Com relação à via transdérmica, oito estudos examinaram o efeito da TEP usando esta via de administração sobre fatores de risco cardiovascular clássicos e não-clássicos entre mulheres pós-menopáusicas com DM2 e são apresentados na Tabela 2 (41-48).

A análise em conjunto destes estudos sugere que a via transdérmica apresentou, na maioria dos resultados, impacto neutro do ponto de vista dos níveis pressóricos.

Em relação ao impacto da terapia transdérmica sobre o perfil lipídico e controle glicêmico, observa-se também impacto neutro na maioria dos estudos, havendo sugestão de melhora significativa nos níveis glicêmicos em um estudo isolado (43).

Do ponto de vista do seu impacto sobre os níveis de PCRas, há resultados apontando tanto para diminuição (47) como para aumento dos níveis deste importante marcador de risco cardiovascular (43;48), parecendo ser este efeito dependente da combinação de TEP utilizada.

Uma análise mais detalhada dos artigos selecionados foi realizada, enfocando especialmente os efeitos de cada esquema terapêutico sobre variáveis específicas relacionadas com os principais fatores de risco cardiovascular em estudo (Tabela 3).

Como pode ser observado pelos dados da tabela 3, o regime que apresentou o melhor impacto sobre os marcadores de risco cardiovascular clássicos foi o que utilizou 50ug de $17\beta E2$ transdérmico associado à progesterona micronizada (41;44;45). O uso seqüencial ou contínuo desta não afetou este desfecho. Esta análise vai ao encontro das recomendações do consenso da Sociedade Norte Americana de Menopausa, o qual sugere que a TEP, em mulheres pós-menopáusicas com DM2, seja utilizada prioritariamente pela via transdérmica, utilizando baixa dosagem de estrógeno, associado a progestágeno seqüencial, preferencialmente a progesterona micronizada (49).

Apesar da combinação de 50ug de $17\beta E2$ transdérmico associado à progesterona micronizada ser o regime de TEP de escolha para mulheres pós-menopáusicas com DM2, ainda restam questionamentos importantes sobre o impacto do uso desta combinação nesta população. Até o presente momento não há relato do impacto deste regime sobre os níveis de PCRas, importante marcador não-clássico de risco cardiovascular, tampouco

dispomos de ensaios clínicos randomizados avaliando desfechos clínicos resultantes do uso desta combinação em mulheres pós-menopáusicas com DM2.

Conclusão

Concluimos que, no atual momento do conhecimento, faz-se extremamente importante a continuidade da pesquisa neste tópico para que tenhamos suficiente entendimento sobre como manejar adequadamente este grupo que representa significativa parcela de nossa população e apresenta elevado risco cardiovascular.

Tabela 1. Estudos que avaliaram o efeito de regimes de TEP usando via oral em fatores de risco cardiovascular clássicos e não-clássicos entre mulheres pós-menopáusicas com DM2.

Autor	Revista	Ano	População	Delineamento	N	Intervenção	Duração	Efeito
Garnero P, et al. (37)	Hum Rep	2002	PM DMT2	ECR C	139	17βE2 VO 2mg + ANET VO 1mg/d cc	2 anos	↑ 129% PCRas *
						Tibolona VO 2.5mg/d		↑ 100% PCRas *
						Tibolona VO 1.25mg/d		↑ 260% PCRas *
Crespo, et al. (28)	Diabetes Care	2002	PM DMT2	Transversal NHANES III		EEC VO 0.625mg + AMP VO 2.5mg/d cc		↑ 16% PCRas* PaS ↓ CT * ↓ LDL = HDL ↓ TG ↓ Glicemia * ↓ HbA1c
McKenzie, et al. (39)	Clin Endoc	2003	PM DMT2	ECRCP	50	17βE2 VO 1mg + NET VO 0.5 mg/d cc	6 m	↑ 29% PCRas PaS ↓ CT * ↓ LDL * = HDL = TG ↓ Glicemia * ↓ HbA1c
Scott AR, et al. (40)	Diab Obes Metab	2004	PM DM1 e 2	ECRCP	135	17βE2 VO 2mg + ANET VO 1mg/d cc	12 meses	PCRas ↑ PaS ↑ PaD ↓ CT * ↓ LDL ↓ HDL * ↓ TG ↓ Frutosamina Glicemia HbA1c
Howard et al. (38)	Circulat.	2004	PM IG DCV Dx Angio	ECRCP	183	EEC VO 0.625mg (60%)	2.8 anos	↑ 46% PCRas *
						EEC VO 0.625mg + AMP VO 2.5mg/d cc		↓ PaS ↑ CT ↓ LDL ↑ HDL * ↑ TG ↓ Glicemia ↑ HbA1c

* p < 0.05, PM = pós menopáusicas, DMT2 = diabetes mellitus tipo 2, DMT1 = diabetes mellitus tipo 1, IG = intolerância à glicose, DCV = doença cardiovascular, Dx Angio = diagnóstico por angiografia, 17BE2 = 17 beta estradiol, ANET = acetate de noretisterona, EEC = estrógeno equino conjugado, AMP = acetato

de medroxiprogesterona, NET = noretisterona, cc = regime contínuo combinado, seq = regime sequencial, PaS = pressão arterial sistólica, PaD = Pressão arterial diastólica, CT = colesterol total, TG = triglicerídeos.

Tabela 2. Estudos que avaliaram o efeito de regimes de TEP usando via transdérmica em fatores de risco cardiovascular clássicos e não-clássicos entre mulheres pós-menopáusicas com DM2.

Autor	Revista	Ano	População	Delineamento	N	Intervenção	Duração	Efeito
Mosnier-Pudarr-H, et al. (45)	Arch Mal Coeur Vaiss	1991	PM DMT2	ECR C	32	17βE2 T ? dose PM ? via e dose	6 m	PCRas = PaS = PaD = CT = LDL = HDL = TG = HbA1c
Sattar, et al. (47)	Lancet	1999	PM DMT2	ECRCP	33	17βE2 T 80ug + ANET VO 1mg/d cc	6m	↓ 10% PCRas *
Perera M, et al. (46)	J Clin End Metab	2001	PM DMT2	ECRCP	43	17βE2 T 80ug + ANET VO 1mg/d cc	6 m	Pa ↓ CT * ↓ LDL ↓ HDL ↓ TG * ↓ Lp(a) ↑ Glicemia = HbA1c
Darko DA, et al. (42)	Diab Res Clinical Practice	2001	PM DMT2	ECR C	33	17βE2 T 50ug + NET T 170ug/d seq 17βE2 VO 2mg + NET VO 1mg/d seq		PCRas ↓ PaS ↓ PaD ↓ CT ↓ LDL ↓ HDL ↓ TG ↓ Glicemia = HbA1c PCRas ↓ PaS ↑ PaD ↓ CT * ↓ LDL * ↓ HDL * ↓ TG * ↑ Glicemia ↓ HbA1c

Araújo DA, et al. (41)	Climateric	2002	PM DMT2	ECR Cross over	21	17βE2 T 50ug + PM 300mg/d seq EEC VO 0.625mg + PM 300 mg/d seq	12 meses	PCRas PaS = CT = LDL = HDL = TG = Glicemia = HbA1c PCRas PaS = CT = LDL ↑ HDL * ↑ TG * = Glicemia = HbA1c
Stojanovic ND, et al. (48)	Angiology	2003	PM DMT2	Coorte Prospectiva Comparada com não usuárias	28 19+	17βE2 T 80ug + DHG VO 10mg/d seq (n=14)* 17βE2 T 80ug (n=5)	12 meses	↑ 103% PCRas = PaS = CT = LDL ↑ HDL ↑ TG ↑ Lp(a) = Glicemia ↓ HbA1c
Fenkci, et al. (43)	Hum Rep	2003	PMDMT2 + HAS	Coorte Prospectiva	20	17βE2 T 50ug + ANET T 0.25mg/d seq	12 sem	↑ 34% PCRas = Pa ↓ CT ↓ LDL ↑ HDL ↑ TG ↓ Glicemia * ↓ HbA1c = Proteinúria
Honise tt SY, et al. (44)	J Clin Endocr Metab	2004	PM DMT2 Rosiglitaz ona	ECRCP	21	17βE2 T 50ug + PM VO 100mg/d cc	12 sem	PCRas = Pa = CT = LDL = HDL = TG = Glicemia ↓ flow-med dilat *

* p < 0.05, 17BE2 = 17 beta estradiol, ANET = acetate de noretisterona, EEC = estrógeno equino conjugado, AMP = acetato de medroxiprogesterona, NET = noretisterona, DHG = didrogesterona, cc = regime continuo combinado, seq = regime sequencial, PaS = pressão arterial sistólica, PaD = Pressão arterial diastólica, CT = colesterol total, TG = triglicerídeos, flow-med dilat = flow-mediated dilatation.

Tabela 3. Análise do efeito das diversas combinações e vias de uso da TEP e seu impacto em fatores de risco cardiovascular clássicos e não-clássicos entre mulheres pós-menopáusicas com DM2.

Regime	PCRas	Pa	Perfil Lipídico	Níveis Glicêmicos	Ref
Via Oral					
EEC ± AMP cc	↑*	=	↓*	↓*	(28;38)
17βE2 + ANET cc	↑*	↑	↓*	↓*	(37;39;40)
Via Transdérmica					
17βE2 50ug + PM VO cc ou seq		=	=	=	(41;44;45)
17βE2 50ug + ANET VO seq		↑	↓*	↑	(42)
17βE2 50ug + ANET T seq	↑	↓	↓	↓*	(42;43)
17βE2 80ug + ANET VO cc	↓*		↓*	↑	(46;47)
17βE2 80ug ± DHG VO seq	↑	=	=	=	(48)

* p < 0.05, 17BE2 = 17 beta estradiol, ANET = acetate de noretisterona, EEC = estrógeno eqüino conjugado, AMP = acetato de medroxiprogesterona, NET = noretisterona, DHG = didrogesterona, cc = regime continuo combinado, seq = regime seqüencial, PM = progesterona micronizada.

Referências Bibliográficas

- (1) Collins J, Schlesselman J. Hormone Replacement Therapy and Endometrial Cancer. In: Lobo RA, editor. Treatment of the Postmenopausal Woman. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999: 503-511.
- (2) McVeigh C. Perimenopause: More Than Hot Flushes and Night Sweats for Some Australian Women. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs 2005; 34(1):21-27.
- (3) Obermeyer C. Menopause across cultures: a review of the evidence. Menopause 2000; 7(3):184-192.
- (4) Climatério - Aspectos Clínicos e Endocrinológicos. In: Fernandes CE, Baracat EC, de Lima GR, editors. FEBRASGO - Manual de Orientação - Climatério. São Paulo: Ponto, 2004: 15-27.
- (5) Utian WH. Psychosocial and socioeconomic burden of vasomotor symptoms in menopause: A comprehensive review. Health and Quality of Life Outcomes 2005; 3:47-57.
- (6) DATASUS. Indicadores de Saúde 2004. 2004.
- (7) Douglas P. Coronary Artery Disease in Women. In: Braunwald E, Zipes D, Libby P, editors. Heart Disease. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 2001: 2038-2051.
- (8) Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. N Engl J Med 1991; 325(11):756-762.

- (9) 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; 288(3):321-333.
- (10) Grady D, Herrington D, Bittner V et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). JAMA 2002; 288(1):49-57.
- (11) Hulley S, Grady D, Bush T et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. JAMA 1998; 280(7):605-613.
- (12) Waters DD, Alderman EL, Hsia J et al. Effects of hormone replacement therapy and antioxidant vitamin supplements on coronary atherosclerosis in postmenopausal women: a randomized controlled trial. JAMA 2002; 288(19):2432-2440.
- (13) Duncan B, da Silva OB, Polanczyk CA. Prevenção Clínica das Doenças Cardiovasculares. In: Duncan B, Schmidt MI, Giugliani ER, editors. Medicina Ambulatorial: Conduas de Atenção Primária Baseadas em Evidência. Porto Alegre: ArtMed Editora S.A., 2004: 604-617.
- (14) Datasus. Indicadores e dados básicos, Indicadores por mortalidade por grupo de causa, 2004. 2004.
- (15) Dart H, Ryan C. An Exciting Time for Women's Health. In: Hankinson S, Colditz G, Manson J, Speizer F, editors. Healthy Women, Healthy Lives. New York: Fireside, 2001: 3-8.

- (16) Narayan KM, Gregg E, Fagot-Campagna A, Engelgau MM, Vinicor F. Diabetes - a common, growing, serious, costly, and potentially preventable public health problem. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2000; 50(2):77-84.
- (17) National Institute of Health. Background Data Cardiovascular Disease. NHLBI Morbidity and Mortality Chart Book on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. 2002: 25.
- (18) Monteiro C, Conde W, Popkin B. Is obesity replacing or adding to undernutrition? Evidence from different social classes in Brazil. *Public Health Nutrition* 2002; 5(1A):105-112.
- (19) King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21(9):1414-1431.
- (20) American Diabetes Association: clinical practice recommendations 2002. *Diabetes Care* 2002; 25 Suppl 1:S1-147.
- (21) Nathan D. Distribution of C Reactive Protein and Its Relation to Risk Factors and Coronary Heart Disease Risk Estimation in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III. *Prev Cardiol* 4, 109-114. 2001.
- (22) Feher MD, Isaacs AJ. Is hormone replacement therapy prescribed for postmenopausal diabetic women? *Br J Clin Pract* 1996; 50(8):431-432.
- (23) Moorhead T, Hannaford P, Warskyj M. Prevalence and characteristics associated with use of hormone replacement therapy in Britain. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104(3):290-297.

- (24) Keating NL, Cleary PD, Rossi AS, Zaslavsky AM, Ayanian JZ. Use of Hormone Replacement Therapy by Postmenopausal Women in the United States. *Ann Intern Med* 1999; 130(7):545-553.
- (25) Knowler W, Barrett-Connor E, Fowler S et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 7(346 (6)):393-403.
- (26) Rossi R, Origliani G, Modena MG. Transdermal 17- β -Estradiol and Risk of Developing Type 2 Diabetes in a Population of Healthy, Nonobese Postmenopausal Women. *Diabetes Care* 2004; 27(3):645-649.
- (27) Ferrara A, Karter AJ, Ackerson LM, Liu JY, Selby JV. Hormone replacement therapy is associated with better glycemic control in women with type 2 diabetes: The Northern California Kaiser Permanente Diabetes Registry. *Diabetes Care* 2001; 24(7):1144-1150.
- (28) Crespo CJ, Smit E, Snelling A, Sempos CT, Andersen RE. Hormone Replacement Therapy and Its Relationship to Lipid and Glucose Metabolism in Diabetic and Nondiabetic Postmenopausal Women: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Diabetes Care* 2002; 25(10):1675-1680.
- (29) UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998; 317(7160):703-713.
- (30) UKPDS Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet* 1998; 352 (9131)(854):865.

- (31) Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *The New England Journal of Medicine* 2000; 342(12):836-843.
- (32) Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective Study of C-Reactive Protein and the Risk of Future Cardiovascular Events Among Apparently Healthy Women. *Circulation* 1998; 98(8):731-733.
- (33) Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE. Hormone Replacement Therapy and Increased Plasma Concentration of C-Reactive Protein. *Circulation* 1999; 100(7):713-716.
- (34) Ridker PM. High-Sensitivity C-Reactive Protein : Potential Adjunct for Global Risk Assessment in the Primary Prevention of Cardiovascular Disease. *Circulation* 2001; 103(13):1813.
- (35) Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-Reactive Protein and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in the Prediction of First Cardiovascular Events. *The New England Journal of Medicine* 2002; 347(20):1557-1565.
- (36) Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3):363-369.
- (37) Garnero P, Jamin C, Benhamou CL, Pelissier C, Roux C. Effects of tibolone and combined 17 β -estradiol and norethisterone acetate on serum C-reactive protein in healthy post-menopausal women: a randomized trial. *Hum Reprod* 2002; 17(10):2748.
- (38) Howard BV, Hsia J, Ouyang P et al. Postmenopausal Hormone Therapy Is Associated With Atherosclerosis Progression in Women With Abnormal Glucose Tolerance. *Circulation* 2004; 110(2):201-206.

- (39) McKenzie J, Jaap AJ, Galacher S et al. Metabolic, inflammatory and haemostatic effects of a low-dose continuous combined HRT in women with type 2 diabetes: potentially safer with respect to vascular risk? *Clinical Endocrinology* 2003 59:6 682.
- (40) Scott AR, Dhindsa P, Forsyth J, Mansell P. Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular risk factors in postmenopausal women with diabetes*. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2004; 6(1):16-22.
- (41) Araujo DA, Farias ML, Andrade AT. Effects of transdermal and oral estrogen replacement on lipids and glucose metabolism in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Climacteric* 5(3), 286-292. 2002.
- (42) Darko DA, Dornhorst A, Kennedy G, Mandeno RC, Seed M. Glycaemic control and plasma lipoproteins in menopausal women with Type 2 diabetes treated with oral and transdermal combined hormone replacement therapy. D.A. Darko a,*, A. Dornhorst a, G. Kennedy b, R.C. Mandeno c, M. Seed c. *Diabetes Research and Clinical Practice* 54, 157-164. 2001.
- (43) Fenkci S, Fenkci V, Yilmazer M, Serteser M, Koken T. Effects of short-term transdermal hormone replacement therapy on glycaemic control, lipid metabolism, C-reactive protein and proteinuria in postmenopausal women with type 2 diabetes or hypertension. *Human Reproduction* 18[4], 866-870. 2003.
- (44) Honisett SY, Stojanovska L, Sudhir K, Kingwell BA, Dawood T, Komesaroff PA. Hormone Therapy Impairs Endothelial Function in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes Mellitus Treated with Rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(9):4615-4619.

- (45) Mosnier-Pudar H, Faguer B, Guyenne TT, Tchobroutsky G. Effects of deprivation and replacement by percutaneous 17-beta-estradiol and oral progesterone on blood pressure and metabolic parameters in menopause patients with non-insulin-dependent diabetes. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1991; 84(8):1111-1115.
- (46) Perera M, Sattar N, Petrie JR et al. The effects of transdermal estradiol in combination with oral norethisterone on lipoproteins, coagulation, and endothelial markers in postmenopausal women with type 2 diabetes: a randomized, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(3):1140-1143.
- (47) Sattar N, Perera M, Small M, Lumsden MA. Hormone replacement therapy and sensitive C-reactive protein concentrations in women with type-2 diabetes. *Lancet* 1999; 354(9177):487-488.
- (48) Stojanovic ND, Kwong P, Byrne DJ et al. The Effects of Transdermal Estradiol Alone or with Cyclical Dydrogesterone on Markers of Cardiovascular Disease Risk in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes: A Pilot Study. *Angiology* 54(4), 391-399. 2003.
- (49) The North American Menopause Society. Effects of menopause and estrogen replacement therapy or hormone replacement therapy in women with diabetes mellitus: consensus opinion of The North American Menopause Society. *Menopause* 2000; 7(2):87-95.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDOCRINOLOGIA GINECOLÓGICA

Artigo original referente ao trabalho de pesquisa

**HORMONAL THERAPY: THE EFFECT ON CARDIOVASCULAR RISK
FACTORS AMONG DIABETIC POST MENOPAUSAL WOMEN**

Porto Alegre, Dezembro de 2005.

**TRANSDERMAL ESTROGEN AND PROGESTOGEN THERAPY IMPROVES
MAJOR MARKERS OF CARDIOVASCULAR DISEASE IN
POSTMENOPAUSAL DIABETIC WOMEN**

*Suzana Lago, MD,¹ Catherine Hilliker, RN,¹ Luís Beck-da-Silva, MD,² George Wells,
MD,³ Michele Turek, MD, FRCPC,⁴ Erin Keely, MD, FRCPC,⁵, Phyllis Hierlihy, MD,
FRCPC,⁵ Jean Claude Tardif, MD, FRCPC,⁶ and Elaine Jolly, MD, FRCSC¹.*

1. Shirley E. Greenberg Women's Health Center, Department of Obstetrics and Gynecology. Ottawa Hospital, University of Ottawa.

2. University of Ottawa Heart Institute.

3. Department of Epidemiology and Community Medicine. Ottawa Hospital, University of Ottawa.

4. Department of Medicine, Division of Cardiology. Ottawa Hospital, University of Ottawa.

5. Department of Medicine, Division of Endocrinology. Ottawa Hospital, University of Ottawa.

6. Montreal Heart Institute. University of Montreal.

Abstract

Objective. Cardiovascular Disease (CVD) is the leading cause of death among postmenopausal women. Classical risk-factors for CVD include type-2-diabetes-mellitus (T2DM), hypertension, and dyslipidemia. Non-classical risk-factors include hsCRP, Lp(a), and homocysteine. Current literature suggests opposing effects of oral and transdermal hormonal therapy on classical and non-classical risk-factors of CVD. Our aim is to evaluate the impact of a transdermal sequential Estrogen and Progestogen Therapy (EPT) on classical and non-classical risk-factors of CVD in postmenopausal T2DM patients.

Design. Prospective interventional study evaluating the effects of a transdermal EPT regimen (17 β estradiol gel, 50ug/d + micronized oral progesterone, 200mg/d - 14 d/m) in hsCRP levels and other markers of CVD (Blood Pressure, Lp(a), homocysteine, lipid profile, glucose, HbA1c). Fifteen postmenopausal T2DM patients were evaluated at baseline, 6 and 12 weeks.

Results. A neutral impact in hs-CRP levels was observed at 6 weeks after intervention (-0.97 ± 2.58 mg/L, p 0.33), and was sustained at 12 weeks (-0.84 ± 3.08 mg/L, p= 0.72). A significant 7% decrease in systolic blood pressure (-10 ± 13.87 mmHg, p= 0.01), 10% decrease in homocysteine (-0.8 ± 1.30 umol/L, p= 0.03). No impact on glucose control, lipid profile, or Lp(a) was observed.

Conclusions. A neutral impact in hsCRP levels, associated with a significant decrease in systolic blood pressure and homocystein levels suggests a neutral or beneficial effect of the intervention in the CVD risk of postmenopausal T2DM evaluated patients.

Key words: postmenopausal – diabetes - transdermal – cardiovascular – hsCRP - -blood pressure – homocysteine.

Introduction

Estrogen and Progestogen Therapy (EPT) has been widely prescribed to manage menopausal symptoms. EPT was recommended as a modality to prevent Cardiovascular Disease (CVD) in the past. Large observational studies reported significant cardiovascular protection associated with EPT use (1). However, recent randomized controlled clinical trials, designed specifically with the purpose of primary (2) and secondary cardiovascular prevention (3-5), have failed to prove the cardiovascular benefits of the most commonly used EPT combination (0.625mg oral conjugated equine estrogens(CEE) + 2.5mg oral medroxyprogesterone acetate (MPA) daily), and have actually suggested that this EPT combination is associated with cardiovascular harm.

In parallel to this scientific evidence, the profile of the menopausal women is changing world wide. The postmenopausal T2DM female population is growing significantly all over the world as changes in life style habits progressively increase the obese population (6). As women age, they are more likely to develop T2DM. About 12.5% of women aged 50 to 59 have T2DM, with prevalence increasing to 17% to 18% at age 60 and older (7). This group represents a significant percentage of the population, known to be at an increased risk of CVD (8). Besides being a group of increased risk for CVD, such patients often require treatment for menopausal symptoms. Finding the least harmful EPT regimen to be used to manage menopause symptoms in this population is of utmost importance.

The rationale for the present study was derived from a number of reports indicating opposing effects of oral and transdermal EPT on classical and non-classical risk factors of CVD such as blood pressure, lipid profile, glucose control and inflammatory markers (High Sensitive C Reactive Proteine (hsCRP), homocysteine, Lipoprotein(a) (LP(a))).

Among the non-classical risk factors of CVD, hsCRP is the one that has the strongest independent correlation with cardiovascular events, being the most important among the inflammatory markers (22).

Different formulations and doses of estrogen, routes of administration, as well as type and duration of concomitant progestogen can have different effects on such risk factors and markers. The current literature reports a statistically significant 16% increase in the levels of hsCRP among postmenopausal T2DM women using oral EPT (0.625mg oral conjugated equine estrogens + 2.5mg oral medroxyprogesterone acetate daily) (9). Conversely, the literature also report a 10% significant reduction in the levels of hsCRP among T2DM postmenopausal women using a specific transdermal EPT regimen (80µg transdermal 17βestradiol daily + 1mg oral norethindrone daily) (10). Although this latter regimen has been proven to decrease hsCRP, it may not be the best combination to be used in this population.

Even though transdermal 17βestradiol has already been proven to significantly decrease hsCRP levels in the above-mentioned regimen, we propose to test this hypothesis with a lower dose of 17βestradiol (50µg/d) and a neutral progestogen used in a sequential regimen (oral micronized progesterone 200mg/d, 14 days/month). The

literature supports the use of lower doses of estrogen in order to manage menopausal symptoms, thus minimizing other risks (11).

The current recommendations for EPT in diabetic patients is to give preference for the transdermal route, and to use a low dose of estrogen associated with sequential progestogen, preferably micronized progesterone (12).

Based on this evidence, the aim of our study is to evaluate the impact of a specific transdermal EPT regimen, consisting of 50µg transdermal 17βestradiol gel / day + 200mg oral micronized progesterone day, 1-14 of month, on classical and non-classical risk factors of CVD in postmenopausal T2DM women.

Methods

Participants.

After study approval by the Ottawa Hospital Research Ethics Committee, 15 postmenopausal patients were recruited and completed the study at the Menopause Clinic, Ottawa Hospital. Patients were recruited from the community of Ottawa - ON, Canada, by advertisement in local newspapers, as well as by referrals from endocrinologists and cardiologists at the Ottawa Hospital. A total of 300 patients were screened, but after excluding screen failures and due to the media impact of the Women's Health Initiative Study, we enrolled and had complete data in 15 patients. Patients meeting the following criteria were enrolled: amenorrhea for at least 12 months; E2 levels <20pmol/L; FSH levels >30 IU/L; intact uterus; T2DM diagnosed according to the American Diabetes Association: Clinical Guidelines 2000 / World Health Organization (fasting blood glucose above 7.0 mmol/l or ≥126mg/dl twice or > 11.1mmol/l or ≥200mg/dl 2h after a 75g glucose load), at least one year of established diagnosis; no

contraindication to EPT (history of estrogen-dependent cancer, undiagnosed vaginal bleeding, uncontrolled hypertension or severe liver dysfunction); no use of EPT for the previous 3 months. Patients meeting any of the following criteria were excluded from the study: previous cardiovascular events (myocardial infarction, unstable angina, stroke, percutaneous transluminal coronary angioplasty, coronary arterial bypass graft surgery, or known CAD [more than 50% stenosis on major coronary artery] in angiogram), history of venous thromboembolic disease, liver dysfunction, Rheumatoid Arthritis or Systemic Lupus Erythematosus, recent major surgery or illness. Patients were informed not to change medication dose, diet, supplements use, or physical activity levels during the course of the study.

Subjects were considered eligible if they met all the inclusion and none of the exclusion criteria. All patients gave written, informed consent.

Study Protocol

This is a prospective interventional study evaluating the effects of transdermal EPT (17 β estradiol gel, 50ug/d + micronized oral progesterone, 200mg/d for 14 d/m) on hsCRP and the following markers of CVD (blood pressure, Lp(a), homocysteine, lipid profile, glucose, HbA1c). Outcomes were evaluated at baseline, 6 weeks (minimum time to observe an impact of the intervention in the evaluated markers), and 12 weeks (long-term impact of the intervention). Collected data included: weight (Kg), height (cm), BMI (kg/m^2), waist circumference (cm), blood pressure (mmHg), hsCRP (mg/L), Lp(a) (g/L), homocysteine ($\mu\text{mol}/\text{L}$), total cholesterol (mg/dL), HDL(mg/dl), LDL (mg/dL), triglycerides (mg/dL), ratio total/HDL (mg/dL), glucose(mg/dL), HbA1c (%), E₂ (pg/mL).

The primary objective is to determine the impact of a specific transdermal EPT regimen on hsCRP levels in a group of postmenopausal T2DM women. The secondary objective is to evaluate the impact of transdermal EPT on other markers of CVD (BP, Lp(a), homocysteine, total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides, ratio total/HDL, glucose, HbA1c).

Assay Methods

High Sensitive C Reactive Protein was measured using the Dade Behring N High Sensitivity CRP assay (Dade Behring Diagnostics, Marburg, Germany) on the BN ProSpec Nephelometer (Dade Behring Diagnostics). This assay is referenced to the World Health Organization standard and is sensitive in the range of 0.175 to 60mg/L. Both interassay and intra-assay coefficients of variation were <5%.

Lp(a) was measured using the Roche Tina-quant Lipoprotein(a) immunoturbidimetric assay (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) on the Hitachi 917 analyzer (Roche Diagnostics).

Total Homocysteine was measured by a fluorescence polarization immunoassay on the IMx analyzer (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL). The levels of glucose, HbA1C, total cholesterol, triglycerides, LDL, and HDL were assayed by routine laboratory techniques.

Statistical Analysis

Baseline characteristics are summarized using means and standard deviations to describe continuous variables and frequency counts to describe categorical variables. Descriptive statistics, numeric and graphic, were used to present the summary of the data.

An evaluation of the percentage of change in the absolute value of hsCRP, BP, Lp(a), homocysteine, lipid profile, glucose, and HbA1c at 6 and 12 weeks after intervention was conducted. Paired Student *t* test was used if the distribution was normal; otherwise the Wilcoxon signed rank test was used.

The primary analysis was done on a on-treatment basis. All statistical tests were two-tailed and performed at the 0.05 significance level. Confidence intervals and exact *p*-values were reported for all analyses. All data were entered in Microsoft Excel and analyzed using SAS System for Windows (version 8.02; SAS Institute Inc., Cary, NC).

Results

Fifteen white postmenopausal T2DM women were selected. Mean age was 56 years old (± 6.5 years). The average time since menopause was 5 years, and since diagnosis of T2DM was 8 years.

The majority of our patients were pharmacologically controlling the T2DM (80% use of glucose-lowering agent, 20% use of insulin). About half of the patients were using antihypertensive medications (53%), and 33% were using statins.

Patient's baseline characteristics are described in Table 1 and 2.

A 17% non-significant decrease in hsCRP was observed at 6 weeks after intervention ($-0.97 \pm 2.58\text{mg/L}$, $p= 0.33$), and was sustained at 12 weeks ($-0.84 \pm 3.08\text{mg/L}$, $p= 0.72$). Figure 1.

A significant 10% decrease in homocysteine was observed at 12 weeks ($-0.8 \pm 1.30\mu\text{mol/L}$, $p= 0.03$). The same trend was observed with Lp(a), with a 6% non significant decrease at 6 weeks ($-0.03 \pm 0.21\text{g/L}$, $p= 0.47$) and a 19% non significant decrease at 12 weeks ($-0.09 \pm 0.20\text{g/L}$, $p= 0.22$), respectively. Figure 1.

A significant 7% decrease in systolic blood pressure was observed as early as 6 weeks

(-10 ± 10.84 mmHg, $p= 0.001$), and was sustained at 12 weeks (-10 ± 13.87 mmHg, $p= 0.013$). No significant change was observed in diastolic blood pressure.

Figure 2.

There was no significant impact of this EPT regimen on BMI, waist circumference, glucose control or lipid profile at the end of 12 weeks. Characteristics at baseline, 6 and 12 weeks after intervention are described in Table 3.

As previously described in the literature, we identified a highly significant correlation between BMI and hsCRP levels at baseline.

Although this correlation was sustained throughout the 12 weeks (BMI / hsCRP baseline ($r= 0.85$, $p < 0.0001$), at 6 weeks ($r= 0.75$, $p= 0.001$), at 12 weeks ($r= 0.61$, $p= 0.016$)) it did lose its strength as time since intervention evolved. This interesting finding corroborates with the trend towards a decrease in the hsCRP related to the intervention, since there was no significant change in BMI during the study.

Discussion

This study shows that 50 μ g transdermal 17 β estradiol gel / day + 200mg oral micronized progesterone day 1-14 of month demonstrate a neutral impact in hsCRP levels, associated with a significant improvement in systolic blood pressure and homocysteine. The beneficial results seen with this EPT regimen could be due to the use of transdermal route to deliver 17 β estradiol, as opposed to the oral route, which involves the first-pass liver effect.

The action of estrogen on the liver is clinically important because of the specific properties of several hepatic proteins enhanced by estrogen. The hepatic stimulation exerted by estrogens is dose related. In humans, it has long been recognized that serum levels of several hepatic proteins increase during pregnancy in apparent correlation with the rise in estrogen levels. Longitudinal studies during the menopausal transition also suggest that these proteins decrease with the natural decrease in estrogen production. The use of EPT was also described as affecting the liver protein synthesis in different ways, depending on type, dose, and route of administration of estrogen, as well as type, length and dose of progestogen used (13).

Because of the anatomy of the portal circulation, all estrogen absorbed orally must transit through the liver before reaching other destinations of the body. The biological and clinical consequences of the obligatory transit of oral estrogen through the liver are referred to as the first-pass liver effect. The advantage of the transdermal route is to avoid the functional overload of the liver induced by orally ingested estrogens. The transdermal route may decrease the unfavorable clinical consequences of hepatic overload. By delivering physiologic amounts of estrogen directly into the peripheral circulation, the transdermal route may produce an effect analogous to true “artificial ovaries” (13), with minimum impact on liver protein synthesis.

Some of the proteins that best reflect the estrogenic impact in the liver are: Renin Substrate (RS), Sex Hormone Binding Globulin (SHBG), and High Density Lipoprotein (HDL). The estrogenic stimulation of liver proteins is related to clinical findings such as increase in blood pressure due to increase in RS.

High sensitive CRP is also a hepatic protein. One of the hypotheses explaining oral EPT's action to increase hsCRP in opposition to the neutral effect of the transdermal route may be due to the first-pass liver effect seen with the oral route.

The finding of a neutral impact in hsCRP levels associated with a significant decrease in systolic blood pressure seen in our study suggests a neutral impact of this transdermal combination in the liver, associated with a beneficial direct estrogenic effects on the vessel wall. The neutral impact on the lipid profile corroborates the neutral liver impact of this regimen.

Davidson et al. reviewed the effects of menopause and different combinations of EPT on non-classic risk factors of CVD. Increased levels of hsCRP were found to be related to increase in body fat, but not to menopause status. Homocysteine levels had a mean increase of 7% with menopause. Lp (a) also increases with age, and is higher after the onset of menopause. The effects of postmenopausal EPT on cardiovascular risk markers varied according to the formulation and route of administration. Davidson et al. reported that oral ERT with CEE or estradiol consistently increases hsCRP as seen in epidemiological studies and randomized controlled trials. The addition of MPA to oral estrogen therapy seems to attenuate the effect of oral estrogen on hsCRP. In contrast with changes in hsCRP, oral estrogen therapy alone, or in combination with progestogen, is associated with a reduction in homocysteine and Lp(a) levels. Transdermal EPT was shown to have little or no effect in these markers of CVD (14).

Sattar et al. demonstrated a 10% significant reduction in hsCRP among T2DM postmenopausal women after 6 months using a specific transdermal EPT regimen (80µg transdermal 17βestradiol daily + 1mg oral norethindrone daily) (10). This decrease is

thought to be due to the anti-inflammatory effects of the progestogen used, as well as due to the transdermal route and type of estrogen administered. Although this group also reported a beneficial impact on lipoproteins, coagulation factors, and endothelial markers (15), it did not evaluate the impact on non-classic cardiovascular risk factors such as Lp(a) and homocysteine. Interestingly the group did not evaluate the impact of the regimen tested on blood pressure control, an important risk factor among T2DM patients. This study used a higher dose of 17 β estradiol (80 μ g) and a 19-nortestosterone derivate progestogen for a longer period of time (norethindrone, daily use).

Progestogens are known to decrease hsCRP possibly due to its anti-inflammatory effect (14). This appears to be proportional to dose (16) and to the androgenicity of the progestogen utilized. Although Sattar (10) suggests that the decrease in hsCRP observed in their study was, in part, due to the androgenic effect of norethindrone, Garnero et al demonstrated that oral 17 β estradiol associated with 1mg of oral norethindrone acetate daily significantly increases hsCRP by 139% (17). This implies that the decrease in hsCRP is possibly due to the use of the transdermal route of 17 β estradiol, avoiding the first-pass liver effect, rather than to the anti-inflammatory effect of the progestogen used.

In our study the use of a lower dose of transdermal 17 β estradiol (50 μ g/d), associated with a least strong progestogen (micronized progesterone), for a shorter period of time (14 days/month) could explain the neutral or beneficial impact of this regimen on markers of CVD risk among this population (18;19). Micronized progesterone is identical to endogenous progesterone. It is known to be the least potent progestogen available, 500 times less potent than norethindrone (20). It would therefore be the optimal progestogen to be utilized by patients at risk for CVD, especially the T2DM female patients, given the

least impact in cholesterol (21), glucose metabolism, and blood pressure control. The sequential regimen (progestogen used day 1-14 of the month) has also proven to be a better regimen regarding cholesterol impact, when compared to continuous use (progestogen used daily) (21).

The short-term salutary effects of the specific regimen tested on classic and non-classic risk factors of CVD suggests that it may not increase cardiovascular events in this high risk population, and could even prove to be protective.

Large randomized controlled clinical trials would be able to delineate further the impact of this regimen on surrogate endpoints, as well as on cardiovascular outcomes, in this high-risk population.

The limitations of our study include a small sample size and a short period of follow up.

Because there was no available data in the literature regarding baselines levels of hsCRP in the T2DM postmenopausal population at the time of the study conception, this pilot study was undertaken in order to gather this data. Our intention is to proceed, afterwards, with a randomized controlled trial evaluating the same intervention in this population.

Table 1. Baseline characteristics of participants.

Characteristics	Patients (n= 15)
Age (years)	56 (\pm 6.5)*
Race (%) White ethnicity	100
Time since Menopause (months)	61 (8-180) ‡
Time since T2DM diagnosis (years)	8 (1-20) ‡
Weight (Kg)	76.93 (\pm 16.5)*
Body Mass Index (Kg/m ²)	29.75 (\pm 5.4)*
Waist Circumference (cm)	97.86 (\pm 16.1)*
Use of statins n (%)	5 (33)
Use of ASA n (%)	7 (47)
Use of glucose-lowering agent n (%)	12 (80)
Use of Insulin n (%)	3 (20)
Use of antihypertensive n (%)	8 (53)

*Values are given as mean \pm S.D; ‡, time range.
ASA, acetylsalicylic acid.

Table 2. Baseline characteristics of participants.

Characteristics	Patients* (n= 15)
E ₂ (pg/mL)	5.7 (± 12)
FSH (IU/L)	70 (± 31)
SBP (mm/Hg)	139 (± 14)
DBP (mm/Hg)	79 (± 10)
Fasting Glucose (mg/dL)	158 (± 54)
HbA _{1C} (%)	7 (± 1)
WBC (10 ³ /μl)	6.5 (± 1.33)
Total cholesterol (mg/dL)	197 (± 34)
LDL-cholesterol (mg/dL)	119 (± 27)
HDL- cholesterol (mg/dL)	45 (± 12)
Triglycerides (mg/dL)	175 (± 74)
Ratio Total Cholesterol / HDL	4.53 (± 0.99)
hs CRP (mg/L)	5.82 (± 5.42)
homocysteine (μmol/L)	8.36 (± 2.13)
Lp(a) (g/L)	0.47 (± 0.58)

* Values are given as mean ± S.D.

SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HbA_{1C}, glycosylated hemoglobin; WBC, white blood cells; LDL, low-density lipoprotein, HDL high-density lipoprotein hs-CRP, high sensitive C-reactive protein; Lp(a), lipoprotein (a);

Table 3. Descriptive statistics of participants

Characteristics	Baseline* (n= 15)	6 weeks* (n= 15)	p #	12 weeks* (n= 15)	p‡
Weight (Kg)	77 (± 17)	78 (± 17)	0.31	77 (± 16)	0.30
Waist Circumference (cm)	98 (± 16)	98 (± 16)	0.10	100 (± 17)	1
E ₂ (pg/mL)	5.7 (± 12)	101 (± 102)	0.002	115 (± 74)	<0.0001
SBP (mm/Hg)	139 (± 14)	129 (± 13)	0.001	129 (± 10)	0.013
DBP (mm/Hg)	79 (± 10)	76 (± 8)	0.25	77 (± 7)	0.47
Fasting Glucose (mg/dL)	158 (± 54)	153 (± 54)	0.60	156 (± 54)	0.86
HbA _{1C} (%)	7 (± 1)	6 (± 1)	0.43	7 (± 2)	0.82
WBC (10 ³ /μl)	6.5 (± 1.3)	7.1 (± 1.3)	0.04	6.6 (± 1.1)	0.76
Total cholesterol (mg/dL)	197 (± 34)	192 (± 38)	0.30	192 (± 38)	0.88
LDL-cholesterol (mg/dL)	119 (± 27)	104 (± 31)	0.16	115 (± 38)	0.5
HDL-cholesterol (mg/dL)	45 (± 12)	47 (± 12)	0.98	50 (± 15)	0.17
Triglycerides (mg/dL)	175 (± 74)	179 (± 88)	0.22	168 (± 88)	0.93
Ratio Total Cholesterol/HDL	4.53 (± 0.99)	4.25 (± 1.3)	0.61	4.19 (± 1.3)	0.42
hs CRP (mg/L)	5.82 (± 5.42)	4.85 (± 4.42)	0.33	4.98 (± 4.39)	0.72
homocysteine (μmol/L)	8.36 (± 2.13)	8 (± 2.8)	0.43	7.56 (± 1.46)	0.03
Lp(a) (g/L)	0.47 (± 0.58)	0.44 (± 0.57)	0.47	0.38 (± 0.46)	0.22

* Values are given as mean ± S.D.

p# comparison between 6 weeks and baseline; p‡ comparison between 12 weeks and baseline; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HbA_{1C}, glycosylated hemoglobin; WBC, white blood cells; LDL, low-density lipoprotein, HDL high-density lipoprotein; hs-CRP, high sensitive C-reactive protein; Lp(a), lipoprotein (a).

Figure 1. Effect of 50µg transdermal 17βestradiol + 200mg oral sequential micronized progesterone on non classic risk factors of CVD.

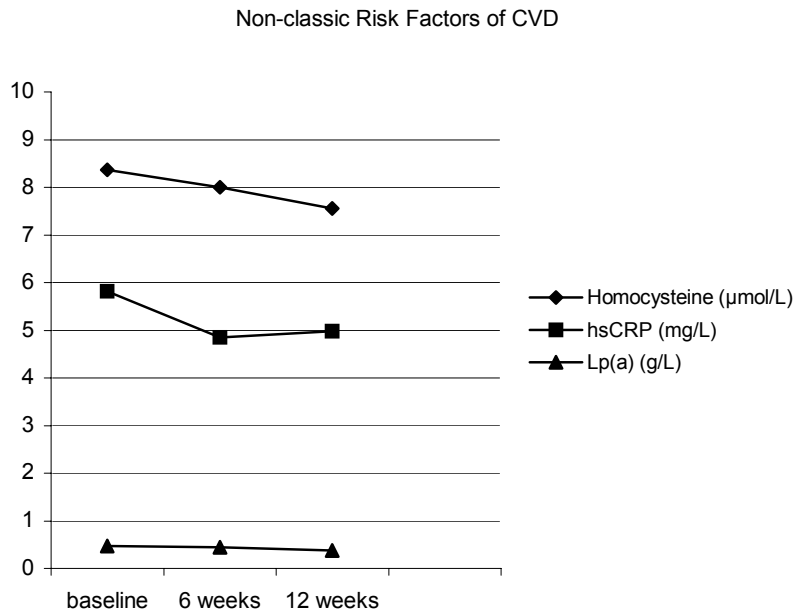
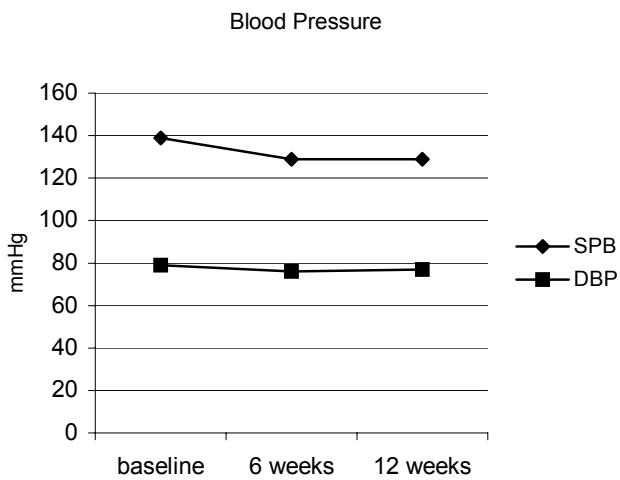


Figure 2. Effect of 50µg transdermal 17βestradiol + 200mg oral sequential micronized progesterone on systolic and diastolic blood pressure.



Reference List

- (1) Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. *N Engl J Med* 1991; 325(11):756-762.
- (2) 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; 288(3):321-333.
- (3) Grady D, Herrington D, Bittner V et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288(1):49-57.
- (4) Hulley S, Grady D, Bush T et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998; 280(7):605-613.
- (5) Waters DD, Alderman EL, Hsia J et al. Effects of hormone replacement therapy and antioxidant vitamin supplements on coronary atherosclerosis in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288(19):2432-2440.

- (6) National Institute of Health. Background Data Cardiovascular Disease. NHLBI Morbidity and Mortality Chart Book on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. 2002: 25.
- (7) American Diabetes Association: clinical practice recommendations 2002. Diabetes Care 2002; 25 Suppl 1:S1-147.
- (8) Nathan D. Distribution of C Reactive Protein and Its Relation to Risk Factors and Coronary Heart Disease Risk Estimation in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III. Prev Cardiol 4, 109-114. 2001.
- (9) Crespo CJ, Smit E, Snelling A, Sempos CT, Andersen RE. Hormone replacement therapy and its relationship to lipid and glucose metabolism in diabetic and nondiabetic postmenopausal women: results from the third national health and nutrition examination survey (NHANES III). Diabetes Care 2002; 25(10):1675-1680.
- (10) Sattar N, Perera M, Small M, Lumsden MA. Hormone replacement therapy and sensitive C-reactive protein concentrations in women with type-2 diabetes. Lancet 1999; 354(9177):487-488.
- (11) Lobo RA, Bush T, Carr BR, Pickar JH. Effects of lower doses of conjugated equine estrogens and medroxyprogesterone acetate on plasma lipids and lipoproteins, coagulation factors, and carbohydrate metabolism. Fertil Steril 2001; 76(1):13-24.
- (12) The North American Menopause Society. Effects of menopause and estrogen replacement therapy or hormone replacement therapy in women with

diabetes mellitus: consensus opinion of The North American Menopause Society. *Menopause* 2000; 7(2):87-95.

(13) D.de Ziegler. Is the Liver a target Organ for Estrogen? In: Sitruk-Ware R UWHMDI, editor. *the Menopause and Hormonal Replacement Therapy*. New York: Marcel Dekker, Inc; 1991: 201-225.

(14) Davison S, Davis SR. New markers for cardiovascular disease risk in women: impact of endogenous estrogen status and exogenous postmenopausal hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6):2470-2478.

(15) Perera M, Sattar N, Petrie JR et al. The effects of transdermal estradiol in combination with oral norethisterone on lipoproteins, coagulation, and endothelial markers in postmenopausal women with type 2 diabetes: a randomized, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(3):1140-1143.

(16) Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N, Fukaya T. Effect of Medroxyprogesterone Acetate on Vascular Inflammatory Markers in Postmenopausal Women Receiving Estrogen. *Circulation* 2002; 105(12):1436.

(17) Garnero P, Jamin C, Benhamou CL, Pelissier C, Roux C. Effects of tibolone and combined 17 β -estradiol and norethisterone acetate on serum C-reactive protein in healthy post-menopausal women: a randomized trial. *Hum Reprod* 2002; 17(10):2748.

(18) Pickar JH, Yeh I, Wheeler JE, Cunnane MF, Speroff L. Endometrial effects of lower doses of conjugated equine estrogens and medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 2001; 76(1):25-31.

- (19) Utian WH, Shoupe D, Bachmann G, Pinkerton JV, Pickar JH. Relief of vasomotor symptoms and vaginal atrophy with lower doses of conjugated equine estrogens and medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 2001; 75(6):1065-1079.
- (20) The North American Menopause Society. Role of Progestogen in Hormone Therapy for Postmenopausal Women: Position Statement of The North American Menopause Society. *Menopause Management* 12[3], 9-16. 2003.
- (21) 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(3):199-208.
- (22) Ridker PM, Hennekes CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *The New England Journal of Medicine* 2000; 342(12):836-843.