

## Estradiol Transdérmico y Perfil Lipídico: Efectos en un Grupo Específico de Mujeres Brasileñas Posmenopáusicas.

Daniel R. Callejon<sup>1</sup>, Danyelle Romana. A. Rios<sup>1</sup>, Sílvio A. Franceschini<sup>2</sup>, Maria Regina T. Tolo<sup>1</sup>

Universidade de São Paulo<sup>1</sup>, São Paulo, SP; Universidade de Ribeirão Preto<sup>2</sup>, Ribeirão Preto, SP, Brasil

### Resumen

**Fundamento:** Cambios significantes ocurren en las mujeres posmenopáusicas que pueden inducir enfermedades cardiovasculares, tales como el perfil lipídico aterogénico debido a un aumento en los niveles de colesterol total y LDL y una disminución en los niveles de HDL. La terapia de reemplazo hormonal (TRH) puede evitar esos cambios en el perfil lipídico.

**Objetivo:** Determinar los efectos de la TRH constituida por estradiol transdérmico y acetato de medroxiprogesterona en los parámetros bioquímicos y lipídicos de mujeres brasileñas posmenopáusicas

**Métodos:** Este es un estudio prospectivo, longitudinal, abierto, en el que treinta mujeres posmenopáusicas recibieron estradiol en gel transdérmico (1 mg/día) de forma continua, combinado con acetato de medroxiprogesterona (MPA) (5 mg/día) por 12 días/mes. Se determinaron los siguientes parámetros: colesterol total, triglicéridos, lipoproteína de alta densidad (HDL-colesterol), lipoproteína de baja densidad (LDL-colesterol), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL-colesterol), glucosa, aspartato transaminasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), Gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) y hormona foliculoestimulante (FSH).

**Resultados:** Los parámetros del perfil lipídico mostraron una disminución insignificante, mientras los niveles de GGT y FSH presentaron una disminución estadísticamente significativa.

**Conclusiones:** El tratamiento con estradiol en gel transdérmico no mostró un impacto significativo en el perfil lipídico, causando un efecto benéfico en los marcadores de enfermedades cardiovasculares, sugiriendo que la dosis, el modo de administración y el tiempo de tratamiento fueron importantes para esos resultados. Además, el tratamiento con dosis baja y modo de administración transdérmico también demostró un significativo efecto hepático en esa población. Así pues, ese tratamiento puede surtir efectos interesantes sobre el perfil lipídico en las mujeres brasileñas posmenopáusicas.

**Palabras claves:** Estradiol, posmenopáusica, enfermedades cardiovasculares, lípidos, hormonas/administración & dosificación.

### Introducción

En la menopausia, la falla ovariana conduce a un estado de hipostrogenismo. Con el aumento de la expectativa de vida, las mujeres viven un tercio de sus vidas bajo un estado de deficiencia de estrógeno; luego, las consecuencias de esta deficiencia se vuelven relevantes para la calidad de vida en las mujeres posmenopáusicas<sup>1,2</sup>. Los síntomas característicos en el período de la posmenopausia son ardores, sudores, dispareunia, atrofas urogenitales y depresión<sup>3,4</sup>. La deficiencia crónica de estrógeno puede causar la osteoporosis y las enfermedades cardiovasculares (ECV), que son la principal causa de muerte y el mayor contribuidor para la incapacidad en las mujeres<sup>5,6</sup>.

Tras la menopausia, cambios significantes ocurren y pueden conducir a enfermedades cardiovasculares tales como el perfil lipídico aterogénico, debido a un aumento en los niveles de colesterol total y LDL-colesterol y una disminución en los niveles de HDL-colesterol<sup>6,7</sup>. Adicionalmente, otros factores pueden contribuir para el desarrollo de las ECV, como por ejemplo, el aumento en el fibrógeno<sup>8</sup>, factor VII<sup>9</sup>, inhibidor de activación de plasminogenio (PAI-1)<sup>10</sup>, y niveles de glicemia<sup>11</sup>.

Actualmente, la terapia de reemplazo hormonal (TRH) generalmente involucra estrógeno combinado con progesterona y tiene el objetivo de tratar los síntomas de la menopausia y prevenir la osteoporosis, de modo a aumentar la calidad de vida de mujeres en la posmenopausia<sup>3</sup>.

La prevención de las ECV inducidas por TRH es un tema controversial, porque hallazgos relevantes en el estudio HERS (Heart and Estrogen/progestin Replacement Study)<sup>12</sup> mostraron que la TRH constituida por estrógeno equino conjugado

**Correspondencia:** Maria Regina Torqueti Tolo •

Bloco M, sala 327, Av do Café, s/n, Monte Alegre, CEP: 14040-903 - Ribeirão Preto/SP, Brasil.

E-mail: torqueti@fcrp.usp.br

Artículo recibido el 06/04/08; revisado recibido el 25/11/08; aceptado el 29/05/09

(EEC), asociado al acetato de medroxiprogesterona (MPA) no fue eficaz en la prevención de eventos cardiovasculares en mujeres en la posmenopausia con ECV establecida. El estudio WHI (Women's Health Initiative)<sup>13</sup>, un test controlado randomizado de prevención primaria, usando EEC 0,625mg + MPA 2,5 mg, mostró que el grupo recibiendo TRH presentaba un riesgo aumentado significativo de eventos cardiovasculares y tromboembólicos y de cáncer de mama, cuando comparado con el grupo placebo, interrumpiéndose precozmente (seguimiento de 5,2 años).

Sin embargo, muchos estudios observacionales epidemiológicos vienen demostrando que la TRH puede tener efectos benéficos sobre la ECV. Estos efectos benéficos incluyen cambios favorables en los niveles lipídicos, porque la TRH puede disminuir los niveles de colesterol total, LDL, Lp(a) y aumentar los niveles de HDL; de esa forma, el perfil lipídico se vuelve no aterogénico<sup>14-16</sup>.

Con todo, estos efectos dependen del tipo de estrógeno, dosis y rutas de administración utilizadas. El resultado del primer pasaje hepático parece tener un efecto importante en el perfil lipídico y en las alteraciones de parámetros hemostáticos, porque ambos se producen en el hígado. Los altos niveles de estrógeno administrados por vía oral resultan en cambios benéficos en el perfil lipídico, pero aumentan los factores hemostáticos, aumentando también el riesgo de tromboembolismo venoso (TEV)<sup>17,18</sup>. En la administración de estrógeno por vía transdérmica, se utilizan bajos niveles de estrógeno; así, no hay el efecto del primer pasaje hepático en el hígado y en consecuencia, esa ruta de administración tiene un menor impacto en el perfil lipídico y en los parámetros homeostáticos que la administración por vía oral<sup>19</sup>.

El presente estudio tiene el objetivo de determinar los efectos de la TRH constituida por estradiol en gel transdérmico asociado a acetato de medroxiprogesterona (MPA) sobre el perfil lipídico y parámetros bioquímicos en las mujeres brasileñas posmenopáusicas.

## Métodos

### Pacientes

El Servicio de Salud de la Universidad de São Paulo condujo la selección de pacientes. Se incluyeron en el presente estudio a mujeres con el útero intacto, presentando amenorrea por un año o más, con niveles de hormona foliculoestimulante (FSH) > 30mIU/dL y un índice de masa corporal (IMC) < 32 kg/m<sup>2</sup>.

Los criterios de exclusión fueron: uso de estrógeno o progestógenos en los 3 meses anteriores al estudio (*washout*), sangrado anormal, efectos adversos con uso de estrógeno o progestógenos, uso previo de medicamento que pudiera interferir con los niveles lipídicos, enfermedad de la piel, historial de disturbios tromboembólicos o disturbios tromboembólicos actuales, enfermedad inmunológica, anormalidades clínicamente relevantes en función hemostática, hepática o endocrina, cáncer de mama o cáncer hormona dependiente. Se obtuvo un consentimiento informado de cada paciente antes de su inclusión en el estudio y el Comité de Ética en la Investigación de la Escuela de Ciencias Farmacéuticas de Riberão Preto lo aprobó.

### Protocolo del estudio

Trataron a las mujeres elegidas con una aplicación diaria de estradiol en gel transdérmico conteniendo 1 mg de estradiol en 1 g de gel hidroalcohólico. Para evitar hiperplasia endometrial, se les suministraron 5 mg de acetato de medroxiprogesterona (MPA) oral en 12 días consecutivos durante cada mes. Se realizó la terapia hormonal por un periodo de 6 meses.

Se extrajeron muestras de sangre venoso entre 8 y 10 de la mañana tras un periodo de ayuno nocturno. Las pacientes permanecieron sentadas por 10 minutos antes de la venopunción. Se centrifugaron las muestras de sangre por 20 minutos a 2500 g. Se les colectaron las muestras de sangre venoso a las voluntarias antes del tratamiento y tras 6 ciclos consecutivos de tratamiento.

### Ensayos laboratoriales

Parámetros Lipídicos: colesterol total [BE-PAK Colesterol (Fast Color), Bayer], HDL-colesterol (lipoproteína de alta densidad) [HDL READS, Labetest Diagnóstica], Triglicéridos [BE-PAK Triglicéridos (Fast Color), Bayer]. Se determinaron estos parámetros a través de métodos enzimáticos y colorimétricos en un autoanalizador opeRA® Bayer. Se calcularon los niveles de LDL (lipoproteína de baja densidad) por la fórmula de Friedewald: [LDL-colesterol] = [colesterol total] - [HDL-colesterol] - [Triglicéridos]/5. Se calcularon los niveles de VLDL-colesterol (lipoproteína de muy baja densidad) por la fórmula: [VLDL-colesterol] = [triglicéridos]/5<sup>20</sup>. Parámetros bioquímicos: glucosa [BE-PAK Glucosa, Bayer], AST (Aspartato transaminasa) [T01-1746-85, Bayer], ALT (Alanina Aminotransferasa) [T01-1756-85, Bayer], GGT (Gammaglutamiltranspeptidasa) [T01-1913-01, Bayer]. Se determinaron todos los parámetros anteriormente mencionados por métodos enzimáticos y colorimétricos en un autoanalizador opeRA® Bayer. Se determinaron los niveles de FSH (hormona foliculoestimulante) [Immulite FSH, DPC Medlab], por el método quimioluminescente en autoanalizador Immulite-1®DPCMedline. Se realizaron los análisis laboratoriales pre y postratamiento concomitantemente con la finalidad de minimizar variaciones interensayo.

### Análisis estadístico

Todos los datos estadísticos se expresan como promedio ± DE. Se realizó la comparación entre valores pre y postratamiento por el test *t* de Student paramétrico para datos pareados. Se consideraron significantes los valores de *p* < 0,05.

## Resultados

La Tabla 1 muestra las características físicas y clínicas de las 30 mujeres seleccionadas para el estudio. Durante el periodo de tratamiento, no se encontró ninguna alteración significativa respecto a la IMC, presión diastólica y presión sistólica.

Cuatro pacientes eran fumadores. Ninguna paciente usaba medicamento que pudiera interferir en los ensayos lipídicos y bioquímicos.

La Tabla 2 muestra el perfil lipídico y los parámetros bioquímicos de 30 pacientes que recibieron una administración diaria de 1 mg de estradiol en gel transdérmico, combinado

con 5 mg de MPA oral durante 12 días consecutivos cada mes. Se determinaron todos los parámetros antes del tratamiento (T0) y al final del período de tratamiento de 6 meses (T1).

No hubo una disminución significativa en ninguno de los parámetros del perfil lipídico. La disminución de los niveles séricos del colesterol total fue del 4,6%, triglicéridos, del 8,3%, LDL, del 2,6%, VLDL, del 11,3% y HDL, del 5,0% en comparación con T0.

Tras el tratamiento, no se observó ningún cambio significativo en los niveles de glucosa, AST y ALT. Sin embargo, los niveles de GGT y FSH presentaron disminución significativa, del 34,2% ( $p=0,0170$ ) y del 36,6% ( $p<0,0001$ ) respectivamente.

## Discusión

Los resultados mostraron que todos los parámetros del perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicéridos), presentaron una reducción; no obstante, esa reducción no fue estadísticamente significativa, así pues que el tratamiento no obtuvo un efecto benéfico en los marcadores de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, hubo una disminución significativa en las enzimas hepáticas; esos resultados sugieren que, a despecho de la dosis y de la vía de administración, el estradiol tiene un impacto en el hígado.

Varios estudios mostraron que la protección cardiovascular producida por la TRH tiene un efecto del estrógeno sobre el perfil lipídico. El estrógeno disminuye los niveles de colesterol total y LDL y aumenta los niveles de HDL, volviendo el perfil lipídico menos aterogénico, revertiendo las alteraciones aterogénicas del perfil lipídico durante la menopausia<sup>14-16</sup>. No obstante, ese efecto benéfico depende de dos principales factores en la TRH: vía de administración y progestógenos.

Algunos estudios muestran que la vía de administración oral del estrógeno tiene un gran impacto sobre el perfil lipídico,

porque ella utiliza altos niveles de estrógeno en comparación con otras vías debido a problemas de biodisponibilidad, tales como la transformación del estrógeno a estrona en el intestino y el efecto del primer pasaje hepático en el hígado. Esos niveles de estrógeno aumentan la actividad de las enzimas hepáticas lipasas y en consecuencia, los niveles de colesterol total y de LDL disminuyen y la síntesis de HDL, estimulando sobre todo la fracción HDL<sub>2</sub>, disminuyendo así el riesgo de ECV<sup>21,22</sup>. En la vía transdérmica, la dosis de estrógeno es menor que en la vía oral, evitando el efecto del primer pasaje hepático en el hígado, retrasando el efecto de la vía transdérmica en el perfil lipídico, e de cierta forma, atenuándolo<sup>23-25</sup>. Así, los efectos de la vía transdérmica en el perfil lipídico sólo se vuelven aparentes tras una terapia prolongada.

Con todo, el principal efecto colateral de la TRH, que es el tromboembolismo venoso (TEV), tiene menor incidencia por la vía transdérmica. Estudios vienen evidenciando que el riesgo de TEV es mayor entre usuarias de TRH por vía oral que en no usuarias, o usuarias de TRH vía transdérmica<sup>19,26</sup>. Así, la vía transdérmica causa un efecto benéfico sobre el perfil lipídico con menor riesgo de TEV.

Tabla 1 - Características de los Individuos

Parámetro	Promedio $\pm$ DE	Variación
Edad (años)	49,07 $\pm$ 4,7	39 - 61
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,01 $\pm$ 4,0	22 - 31
Presión arterial sistólica (mmHg)	120 $\pm$ 15,0	100 - 160
Presión arterial diastólica (mmHg)	80 $\pm$ 11,0	60 - 100

IMC - índice de masa corporal; los datos se expresan como promedio  $\pm$  desviación estándar (DE).

Tabla 2 - Alteraciones en parámetros lipídicos y bioquímicos

Parámetros	Basal (T0) n = 30	Tras 6 Meses (T1) n = 30	Valor de p *	Valor de Referencia
Colesterol total (mg/dL)	213.80 $\pm$ 39.46	203.87 $\pm$ 36.81	0.1013	< 200
Triglicéridos (mg/dL)	123.80 $\pm$ 59.13	113.47 $\pm$ 45.60	0.3735	< 150
LDL (mg/dL)	126.73 $\pm$ 36.40	123.37 $\pm$ 31.76	0.5666	< 130
VLDL (mg/dL)	25.39 $\pm$ 14.34	22.51 $\pm$ 8.94	0.2765	< 30
HDL ( mg/dL)	60.43 $\pm$ 12.69	57.43 $\pm$ 11.12	0.1037	> 45
Glucosa (mg/dL)	80.47 $\pm$ 11.14	83.03 $\pm$ 11.08	0.1905	70 - 110
AST (U/L)	19.43 $\pm$ 11.00	17.37 $\pm$ 7.50	0.3447	5 - 40
ALT (U/L)	24.90 $\pm$ 19.60	24.50 $\pm$ 12.71	0.3055	5 - 40
GGT (U/L)	37.23 $\pm$ 26.10	24.50 $\pm$ 12.71	0.0170**	13 - 47
FSH (mUI/mL)	63.52 $\pm$ 36.71	40.28 $\pm$ 30.21	< 0.0001**	42-126

LDL - lipoproteína de baja densidad; VLDL - lipoproteína de muy baja densidad; HDL - lipoproteína de alta densidad; Aspartato Aminotransferasa (AST); Alanina Aminotransferasa (ALT); Gammaglutamiltranspeptidasa (GGT); Hormona Foliculoestimulante (FSH).

Se expresan los datos como promedio  $\pm$  desviación estándar (DE) \*Determinado por test t pareado. \*\* $p < 0,05$ .

En el presente estudio, mostramos que el estradiol en gel transdérmico no tuvo un efecto significativo en el perfil lipídico, sino hubo una disminución de todos los parámetros analizados. Esos resultados están probablemente asociados a factores como la vía transdérmica de administración, la corta duración de la terapia y los progestógenos.

Hirvonen et al.<sup>27</sup> comparó el efecto del uso de estradiol transdérmico con el uso oral asociado con MPA sobre el perfil lipídico en las mujeres posmenopáusicas. Los resultados mostraron que la TRH oral resultó en una reducción significativa en los niveles de colesterol total tras 12 meses de tratamiento. La TRH por vía transdérmica con 1 mg de estradiol mostró una pequeña, pero estadísticamente significativa disminución en los niveles de colesterol total y triglicéridos durante la fase progestogénica tras 12 meses, mientras que el grupo al recibir 2 mg de estradiol en gel no mostró alteraciones significativas en los niveles lipídicos. Karjalainen et al.<sup>28</sup> compararon el efecto de TRH con estradiol transdérmico (estradiol en gel 1,0 mg) y oral (valerato de estradiol 2,0 mg) sobre el perfil lipídico. La terapia transdérmica se constituía de estradiol en gel y la terapia oral por valerato de estradiol. Las mujeres histerectomizadas, posmenopáusicas, recibieron tratamiento por 6 meses y los resultados mostraron que ambos tratamientos indujeron cambios antiaterogénicos en el perfil lipídico, demostrados por una disminución en los niveles de colesterol total y LDL; sin embargo, la TRH vía oral causó un aumento de los niveles de triglicéridos y HDL.

En nuestro estudio, observamos resultados similares a aquéllos de Hirvonen et al.<sup>27</sup>, a pesar del hecho de que Hirvonen et al.<sup>27</sup> hayan tenido un periodo de tratamiento más largo de lo utilizado en nuestro estudio. A su vez, Karjalainen et al.<sup>28</sup> verificaron un efecto benéfico sobre el perfil lipídico usando estradiol conjugado. Por lo tanto, el estudio sugiere que el progestógeno puede interferir en los efectos del estrógeno sobre el perfil lipídico, disminuyendo los efectos benéficos que el estrógeno pueda generar sobre el perfil lipídico, sobre todo con la TRH vía transdérmica, cuyo efecto benéfico es muy atenuado.

La interferencia de los progestógenos en los efectos de los estrógenos sobre el perfil lipídico depende de la androgenicidad de los progestógenos. Los progestógenos que se derivan de la testosterona ejercen una gran interferencia sobre los efectos del estrógeno en el perfil lipídico, anulando o disminuyendo los efectos benéficos del estrógeno<sup>29</sup>. No obstante, los progestógenos derivados de la progesterona ejercen una menor interferencia en el perfil lipídico<sup>30</sup>.

En nuestro estudio, no fue posible verificar el efecto de la MPA sobre el perfil lipídico por que no había un grupo de tratamiento recibiendo estradiol conjugado. Sin embargo, es necesario decir que la MPA puede haber interferido en los cambios inducidos por el estrógeno en el perfil lipídico.

Pang et al.<sup>31</sup> compararon tratamientos con estradiol en gel transdérmico conjugado y asociado con MPA por 2 años. Los resultados mostraron que los niveles de colesterol total disminuyeron de forma significativa con los dos tipos de tratamiento, los niveles de LDL disminuyeron de forma significativa en el grupo que usó MPA y los niveles de HDL y triglicéridos no mostraron un cambio significativo en ninguno de los dos tipos de tratamiento.

Por lo tanto, el tratamiento con MPA tuvo un impacto más positivo que el tratamiento con estradiol conjugado. El estudio PEPI (Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions)<sup>15</sup> comparó el tratamiento con EEC asociado a MPA y a progesterona micronizada durante 3 años de tratamiento. Los resultados mostraron que los niveles de HDL aumentaron de forma significativa en el grupo que usó EEC conjugado y EEC asociado a progesterona micronizada respecto a otros grupos; los niveles de LDL disminuyeron, pero esa diferencia no fue significativa. Los niveles de triglicéridos aumentaron en todos los grupos tratados con TRH y los niveles de colesterol total disminuyeron en los grupos tratados con EEC asociado con MPA. Por lo tanto, el tratamiento con estrógeno conjugado y asociado con progestógenos puede haber inducido una mejora en el perfil lipídico; sin embargo, el EEC conjugado y asociado con progesterona micronizada presentó mejores resultados respecto a los niveles de HDL.

Así, podemos sugerir que el tratamiento con estradiol en gel transdérmico puede inducir un efecto benéfico sobre el perfil lipídico, teniendo en cuenta que se observaron dos factores importantes: el tiempo de tratamiento y la asociación con progestógenos.

Los niveles de glucosa e insulina están asociados al riesgo de ECV. Los estudios con contraceptivos orales (CO) mostraron un efecto negativo sobre la tolerancia a los carbohidratos; no obstante, el progestógeno de los CO es el responsable de ese efecto. Estudios verificaron un efecto benéfico de la TRH sobre el metabolismo de carbohidratos, representado por la disminución de la glicemia e insulinemia<sup>14,32</sup>; esa reducción puede contribuir a la disminución de las ECV, pero estudios adicionales son necesarios para establecer ese posible efecto positivo de la TRH sobre el metabolismo de carbohidratos.

El perfil hepático enzimático constituido por las enzimas ALT, AST y GGT mostró una disminución en todas las enzimas, pero los niveles de GGT presentaron una disminución significativa.

Esos resultados sugieren que el efecto del primer pasaje hepático en el hígado es menor en la ruta transdérmica, cuando comparado al efecto por la vía oral, además de tener un efecto benéfico sobre la disminución de la GGT. Lox et al.<sup>33</sup> mostraron que el tratamiento con tamoxifeno para el cáncer de mama en mujeres en la posmenopausia aumentaba de manera significativa los niveles de AST, ALT y GGT. Sin embargo, ese aumento formaba parte de la variación normal, sugiriendo que el tratamiento no había inducido la insuficiencia hepática. Perry y Wisemen<sup>34</sup> verificaron el efecto del valerato de estradiol combinado con noretisterona en mujeres en la posmenopausia. Los resultados mostraron que tras 3 años de tratamiento, los niveles de AST y ALT disminuyeron significativamente, pero esos cambios fueron pequeños y su significancia clínica era incierta.

Así, en el presente estudio, demostramos que el tratamiento con gel de estradiol transdérmico no tuvo un gran impacto en los marcadores de enfermedades cardiovasculares de perfil lipídico, sugiriendo que la dosis y el tiempo de tratamiento fueron los responsables de esos resultados. Los efectos hepáticos de ese tratamiento mostraron un impacto en el hígado a despecho de la pequeña dosis del estradiol y de la ruta de administración vía transdérmica, pero ese impacto tiene significancia clínica incierta.

## Agradecimientos

Agradecemos a Márcia Rodrigues Fernandes, Luisa Helena Dias Costa y Marlise Bonetti Agostinho Montes por su ayuda.

### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

## Referencias

1. Burkman RT, Collins JA, Greene RA. Current perspectives on benefits and risks of hormone replacement therapy. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 185 (Suppl 2): S13-S23.
2. Kenemans P, Van Unnik GA, Mijatovic V, Van der Mooren MJ. Perspectives in hormone replacement therapy. *Maturitas.* 2001; 38 (Suppl.1): S41-S48.
3. Al-Azzawi F. The menopause and its treatment in perspective. *Postgrad Med.* 2001; 77: 292-304.
4. Barnabei VM, Grady D, Stovall DW, Cauley JA, Lin F, Stuenkel CA, et al. Menopausal symptoms in older women and the effects of treatment with hormone therapy. *Obstet Gynecol.* 2002; 100: 1209-18.
5. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 1987; 316: 1105-10.
6. Gensini GF, Micheli S, Prisco D, Abbate R. Menopause and risk cardiovascular disease. *Thromb Res.* 1996; 84: 1-19.
7. Jensen J, Nilas L, Christiansen C. Influence of menopause on serum lipids and lipoproteins. *Maturitas.* 1990; 12: 321-31.
8. Lee AJ, Lowe GDO, Smith WCS, Tunstall-Peda H. Plasma fibrinogen in women: relationship with oral contraception, the menopause and HRT. *Br J Haematol.* 1993; 83: 616-21.
9. Meade TW, Haines AP, Imerson JD, Stirling Y, Thompson SG. Menopausal status and haemostatic variables. *Lancet.* 1983; 1: 22-4.
10. Gebara OCE, Mittleman MA, Sutherland P, Lipinska I, Matheny T, Xu P, et al. Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic potential in the Framingham Offspring Study. *Circulation.* 1995; 91: 1952-8.
11. Walton C, Godsland IF, Proudler AJ, Wynn V, Stevenson JC. The effects of the menopause on insulin sensitivity, secretion and elimination in non-obese, healthy women. *Eur J Clin Invest.* 1993; 23: 466-73.
12. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, 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; 7: 605-13.
13. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. *JAMA.* 2002; 288: 321-33.
14. Nalbusi AA, Folsom AR, White A, Patsch W, Heiss G, Wu KK. Association of hormone replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 1993; 328: 1069-75.
15. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factor in postmenopausal women. *JAMA.* 1995; 273: 199-208.
16. Gökmen O, Eyi EGY. Hormone replacement therapy and lipid-lipoprotein concentrations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999; 85: 31-41.
17. Daly E, Vessey MP, Hawkins MM, Carson JL, Gough P, Marsh S. Risk of venous thromboembolism in users of hormone replacement therapy. *Lancet.* 1996; 348: 977-80.
18. Jick H, Derby LE, Myers MW, Vasilakis C, Newton KM. Risk of hospital admission for idiopathic venous thromboembolism among users of postmenopausal oestrogens. *Lancet.* 1996; 348: 981-3.
19. Scarabin PY, Oger E, Plu-Bureau G. Differential association of oral and transdermal oestrogen-replacement therapy with venous thromboembolism risk. *Lancet.* 2003; 362: 428-32.
20. Bachorik PS, Rifkind BM, Kwiterovich PO. Lipids and dyslipoproteinemia In: Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996. p. 208-36.
21. Lobo RA. Effects of hormonal replacement on lipids and lipoprotein in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 73: 925-30.
22. Wash BW, Li H, Sacks FM. Effects of postmenopausal hormone replacement with oral and transdermal estrogen on high density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res.* 1994; 35: 2083-93.
23. Moorjani S, Dupont A, Labrie F, De Lognieres B, Cusan L, Dupont P, et al. Changes in plasma lipoprotein and apolipoprotein composition in relation to oral versus percutaneous administration of estrogen alone or cyclic association with utrogestan in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 73: 373-9.
24. Lindgren R, Berg G, Hammar M, Larsson-Cohn U, Olsson AG. Plasma lipid and lipoprotein effects of transdermal administration of estradiol and estradiol/norethisterone acetate. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1992; 47: 213-21.
25. Mattsson LA, Samsioe G, von Schoultz B, Uvebrandt M, Wilklund I. Transdermally administered oestradiol combined with oral medroxyprogesterone acetate: the effects on lipoprotein metabolism in postmenopausal women. *Br J Obstet Gynecol.* 1993; 100 (5): 450-3.
26. Callejon DR, Franceschini SA, Montes MBA, Toloí MRT. Hormone replacement therapy and hemostasis: effects in Brazilian postmenopausal women. *Maturitas.* 2005; 52: 249-55.
27. Hirvonen E, Lamberg-Allardt C, Lankinen KS, Geurts P, Wilén-Rosenqvist G. Transdermal oestradiol gel in the treatment of the climacterium: a comparison with oral therapy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997; 104 (Suppl.16): 19-25.
28. Karjalainen A, Heikkinen J, Savolainen MJ, Bäckström AC, Salinto M, Kesäniemi YA. Metabolic changes induced by peroral oestrogen and transdermal oestradiol gel therapy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997; 104 (Suppl.16): 38-43.
29. Crook D, Cust MP, Gangar KF, Worthington M, Hillard TC, Stevenson JC, et al. Comparison of transdermal and oral estrogen-progestin replacement therapy: effects on serum lipids and lipoproteins. *Am J Obstet Gynecol.* 1992; 166: 950-5.
30. Crook D, Godsland IF, Hull J, Stevenson JC. Hormone replacement therapy with dydrogestone and oestradiol -17b: effects on serum lipoproteins and glucose tolerance. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997; 104: 298-304.
31. Pang SC, Greendale GA, Cedars MI, Gambone JC, Lozano K, Eggena P, et al. Long-term effects of transdermal estradiol with and without medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril.* 1993; 59: 76-82.
32. Barrett-Connor E, Laakso M. Ischemic heart disease risk in postmenopausal women: effects of estrogen use on glucose and insulin levels. *Arteriosclerosis.* 1990; 10: 531-4.
33. Lox C, Ronaghan C, Cobos E. Blood chemistry profile in menopausal women administered tamoxifen for breast cancer. *Gen Pharmac.* 1998; 30: 121-4.
34. Perry W, Wiseman RA. Combined oral estradiol valerate-norethisterone treatment over 3 years in postmenopausal women: effects on lipids, coagulation factors, haematology and biochemistry. *Maturitas.* 2002; 42: 157-64.