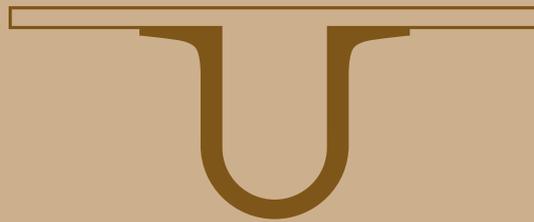




UNIVERSIDADE D  
COIMBRA



Sandra Magalhães Soeiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel protetor dos estrogénios na aterosclerose” referentes à Unidade Curricular “Estágio Curricular” sob a orientação da Dra. Ana Rico, da Eng.<sup>a</sup> Catarina Silva e do Prof. Doutor Diogo Fonseca e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2018

Sandra Magalhães Soeiro

**Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel protetor dos estrogénios na aterosclerose” referentes à Unidade Curricular “Estágio Curricular”**

Sob a orientação da Dra. Ana Rico, da Eng.<sup>a</sup> Catarina Silva e do Prof. Doutor Diogo Fonseca e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Sandra Magalhães Soeiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013152318, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Papel protetor dos estrogénios na aterosclerose” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 6 de setembro de 2018.

Sandra Magalhães Soeiro

(Sandra Magalhães Soeiro)

## **Agradecimentos**

*Ao Professor Doutor Diogo Fonseca por toda a paciência, compreensão e orientação neste trabalho.*

*À Dra. Ana Rico e a toda a equipa da Farmácia Central pela oportunidade de aprender com pessoas tão genuínas e dedicadas. Tive muita sorte em ganhar uma família durante 4 meses. Um muito obrigado a todos por todos os ensinamentos, conselhos e amabilidade.*

*À Eng<sup>a</sup>. Catarina Silva por me ter integrado tão bem na sua equipa que me transmitiu conhecimentos tão valiosos.*

*Aos amigos de sempre por terem continuado comigo mesmo quando a vida nos levou para caminhos diferentes. Um enorme obrigado por serem os verdadeiros.*

*Aos amigos que fiz durante estes 5 anos em Coimbra e que vão permanecer, com todas as certezas, para o longo da vida.*

*À minha colega de casa pelas conversas e desabaços infundáveis e por nunca me deixar desistir de nada.*

*À minha família que sempre me apoiou e quis o melhor para mim.*

*Ao melhor que Coimbra me deu, ao meu melhor amigo, ao melhor namorado que eu poderia ter. Obrigada por todo o incentivo e compreensão nesta etapa mais difícil e por teres sempre a capacidade de me fazer sorrir e, principalmente, de me fazer tão feliz.*

*Aos meus pais e ao meu irmão por todo o apoio e amor incondicional, por me ajudarem a concretizar os meus sonhos e acima de tudo, por fazerem tudo para me ver feliz. Foram e serão sempre o meu porto de abrigo. Nunca irá haver palavras suficientes para agradecer tudo o que fazem e são para mim.*

*Esta vitória também é vossa!*

# Índice

Capítulo I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária .....	1
Lista de abreviaturas .....	2
1. Introdução .....	3
2. Análise SWOT .....	3
2.1. Pontos Fortes .....	3
2.2. Pontos Fracos .....	6
2.3. Oportunidades .....	9
2.4. Ameaças .....	10
3. Casos Práticos .....	12
4. Conclusões .....	14
Capítulo II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica .....	15
Lista de abreviaturas .....	16
1. Introdução .....	17
2. Análise SWOT .....	18
2.1. Pontos fortes .....	18
2.2. Pontos fracos .....	20
2.3. Oportunidades .....	21
2.4. Ameaças .....	22
3. Conclusão .....	23
Capítulo III – Papel protetor dos estrogénios na aterosclerose .....	25
Lista de Abreviaturas .....	26
Resumo .....	27
Abstract .....	28
1. Introdução .....	29
2. Doenças Cardiovasculares .....	29
2.1. Dimorfismo sexual .....	29
3. Aterosclerose .....	31
3.1. Fisiopatologia .....	31
3.2. Fatores de risco .....	33

4. Hormonas Sexuais.....	34
4.1. Estrogénios .....	36
4.2. Papel protetor dos estrogénios .....	37
4.3. Recetores de Estrogénios .....	41
5. Menopausa.....	44
6. Terapêutica Hormonal de Substituição .....	46
6.1. Benefícios .....	47
6.2. Riscos .....	49
6.3. "The timing hypothesis" .....	51
6.4. Balanço benefício/risco .....	53
6.5. Regime terapêutico.....	54
7. Conclusões.....	57
8. Bibliografia .....	59

# **Capítulo I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

## **Lista de abreviaturas**

**ARS** – Administração Regional de Saúde

**DCI** – Denominação Comum Internacional

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** – Medicamentos não sujeitos a receita médica

**MSRM** – Medicamentos sujeitos a receita médica

**PVP** – Preço de Venda ao Público

**SNS** – Sistema Nacional de Saúde

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## **I. Introdução**

A Farmácia Comunitária é muitas vezes o primeiro local acedido pelo doente para procurar alguns cuidados de saúde, dado a sua proximidade, facilidade de acesso e principalmente, devido à confiança que os utentes têm pelos seus profissionais de saúde.

O farmacêutico além de especialista do medicamento tem uma função preponderante na promoção da saúde pública e do bem-estar da população, prestando serviços diferenciados e especializados e exercendo diversas atividades focadas no utente.

Apesar de o farmacêutico usufruir de uma formação académica pluridisciplinar e de poder assim seguir diversas áreas no mercado de trabalho, a Farmácia Comunitária continua a ser a vertente com maior visibilidade e procura, a que promove o contacto mais direto com os utentes e que permite uma intervenção ativa, autónoma e de enorme responsabilidade adaptada às necessidades da comunidade.

A realização de um estágio curricular proporciona a oportunidade de contactar com o exercício profissional, de consolidar e pôr em prática os conhecimentos adquiridos durante toda a formação académica e além do mais, permite a aprendizagem de novas competências, tanto técnicas como pessoais, essenciais para se ser um bom profissional.

Assim, no âmbito da conclusão da minha formação, realizei um estágio de Janeiro até ao final de Abril, num total de 652h, na Farmácia Central de Coimbra sob orientação da Dra. Ana Rico e com o apoio de uma equipa técnica incrível. A motivação da escolha deste local deveu-se ao facto de ser uma farmácia de enorme prestígio com quase 200 anos de história e por se localizar numa das zonas mais movimentadas da cidade.

Este relatório pretende a descrição e avaliação do estágio de forma crítica através da análise SWOT, destacando-se os pontos fortes e os pontos fracos relativamente ao ambiente interno e as oportunidades e ameaças perante o ambiente externo.

## **2. Análise SWOT**

### **2.1. Pontos Fortes**

#### Localização

A Farmácia Central localiza-se na Baixa de Coimbra, uma zona muito frequentada devido à facilidade de acesso através de transportes públicos, ao elevado comércio tradicional e ao facto de estar registada como Património Mundial da Unesco, o que acarreta uma enorme circulação turística. Além disso, a maioria dos utentes regulares da farmácia residem nesta zona. Deste modo, existe uma afluência enorme de diferentes utentes a esta farmácia.

### Horário flexível

Desde o início que a orientadora de estágio nos deu liberdade para construir o nosso horário da forma que achávamos mais proveitosa para realizar as horas necessárias. Assim sendo, concedeu-nos a possibilidade de estagiar aos sábados e fazer algumas horas durante os serviços, o que foi uma enorme oportunidade para contactar com casos clínicos e atendimentos diferentes dos habituais durante a semana.

### Equipa de trabalho

Os colaboradores da Farmácia Central foram o ponto mais forte deste estágio curricular, uma vez que demonstraram sempre muito carinho, vontade de ajudar e ensinar, facilitando desde o início a integração na equipa e no trabalho. Além disso, acompanharam-me constantemente nas diversas tarefas realizadas, com o intuito de transmitir o maior nível de conhecimentos e capacidades possíveis, concedendo-me sempre a autonomia necessária o que considero que foi fulcral para a minha aprendizagem.

### Armazenamento por grupo farmacológico

A Farmácia Central dispõe de uma organização incomum dos medicamentos, uma vez que ao contrário da habitual distribuição por forma farmacêutica e ordem alfabética, recorre ao armazenamento por grupo farmacológico. Este fator foi crucial para aprender alguns dos nomes comerciais dos medicamentos e consolidar os conhecimentos sobre as principais indicações terapêuticas de cada fármaco, facilitando assim o atendimento aos utentes.

As dificuldades sentidas inicialmente foram sendo ultrapassadas principalmente com a prática e com o auxílio dos colaboradores, mas também com recurso ao Prontuário Terapêutico disponibilizado na farmácia e à informação presente no Sifarma 2000®.

### Prestação de serviços farmacêuticos

A existência de vários serviços prestados na Farmácia Central foi muito benéfica para a minha formação, uma vez que pude colocar em prática os conceitos aprendidos na teoria, principalmente com a realização de medições da pressão arterial e determinação da glicémia e colesterol total. Além de aperfeiçoar os procedimentos e a utilização dos dispositivos médicos necessários para estes testes, pude analisar os resultados e prestar o devido aconselhamento e acompanhamento farmacêutico.

Por outro lado, também tive a oportunidade de realizar a reconstituição de alguns antibióticos e fornecer os devidos conselhos aos utentes.

### Inserção num grupo de farmácias

A Farmácia Central está integrada num grupo composto por três farmácias, o que constitui uma vantagem na medida em que há uma maior facilidade em aceder a produtos farmacêuticos que existam numa dessas farmácias mas não nos fornecedores e que há a possibilidade de aquisição de produtos em maior quantidade e assim, com melhores condições de compra e consequentemente, melhores preços de venda aos utentes.

### Programa Sifarma 2000®

O sistema informático empregado na Farmácia Central é o Sifarma 2000® que é uma ferramenta extremamente útil na prática farmacêutica diária que permite a execução de diversas funções, sendo muito simples e intuitivo de trabalhar.

Além disso, a informação científica concedida por este *software* a nível da medicação do utente, contribuiu imenso para a prestação de um aconselhamento e atendimento com maior qualidade, eficiência e segurança.

### Saúde Animal

Apesar da dificuldade inicial na área dos produtos veterinários devida ao desconhecimento da maioria dos produtos e dos seus efeitos, a existência de uma gama variada na Farmácia Central e as solicitações regulares de produtos de venda livre e medicamentos sujeitos a receita médica veterinária permitiram-me adquirir um maior nível de conhecimentos e fui aprendendo a prestar o aconselhamento farmacêutico adequado a diferentes situações.

### Diversidade de tarefas

A planificação do meu estágio foi feita de modo a assegurar o desenvolvimento gradual de conhecimentos e capacidades nas diferentes atividades da Farmácia Comunitária. Considero que me ensinaram a realizar as diversas tarefas sempre com uma excelente orientação, muita transparência e com a autonomia necessária de forma a sentir-me valorizada e integrada na equipa.

Deste modo, considerei muito benéfico a iniciação pela receção de encomendas e armazenamento dos produtos, na medida em que me permitiu conhecer os produtos e a sua localização e principalmente relembrar o grupo farmacológico a que cada fármaco pertence, o que me facilitou o atendimento.

Desde o princípio que me foi consentido observar os atendimentos realizados por todos os colaboradores da farmácia, o que me permitiu familiarizar com todos os procedimentos do atendimento ao público, as funções do *software* e como prestar o aconselhamento farmacêutico adequado às situações mais vulgares.

O primeiro contacto com o público foi realizado através da medição da pressão arterial e parâmetros bioquímicos com supervisão, o que me concedeu uma maior confiança para dialogar com os utentes. Posteriormente, incentivaram-me a realizar atendimentos sozinha mas sempre com a disponibilidade em esclarecer qualquer dúvida.

Além do mais, foram-me ensinadas variadas atividades, principalmente a conferência do receituário, processamento da faturação, procedimentos especiais referentes aos psicotrópicos e estupefacientes e gestão dos *stocks*, ao observar e efetuar a elaboração de vários tipos de encomendas, gestão de devoluções, realização de contagens físicas dos produtos e verificação de prazos de validade, que são tarefas com enorme importância para o funcionamento da farmácia e que promovem aos estagiários o contacto com os produtos e a gestão da farmácia.

## **2.2. Pontos Fracos**

### Preparação de Manipulados

A Farmácia Central não pode realizar a preparação de manipulados dado não reunir as condições necessárias, o que considero um ponto fraco no meu estágio por não ter tido oportunidade de aplicar os conhecimentos adquiridos durante a minha formação académica em contexto real.

### Número de estagiários

Apesar de ter sido bastante vantajoso poder partilhar experiências e conhecimentos, mas também inseguranças e dúvidas com outras colegas, a aprendizagem tornou-se por vezes mais difícil devido ao elevado número de estagiárias em simultâneo no balcão de atendimento.

### Nomes comerciais

A associação das designações das marcas comerciais dos medicamentos aos princípios ativos foi uma das maiores dificuldades que tive de enfrentar, uma vez que durante o curso quase que não existe referência aos nomes comerciais.

Embora os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) sejam prescritos por denominação comum internacional (DCI), a maioria das vezes estes eram solicitados pelo nome comercial, frequentemente pronunciado incorretamente. Estas situações dificultaram muitas vezes o atendimento e obrigaram à procura constante de auxílio por parte dos colaboradores e ao recurso do Sifarma 2000®, o que consumia mais tempo de atendimento e se tornava numa barreira de comunicação com o utente.

#### Variedade de genéricos

O crescente aumento do mercado dos medicamentos genéricos e a existência de um número elevado de laboratórios aumenta o tempo de atendimento uma vez que na sua maioria é preciso procurar os laboratórios a que os utentes estão habituados para cada medicamento, de modo a não se gerar confusões na toma da medicação.

Este processo é dificultado quando não há ficha de utente criada e não é possível verificar o histórico de vendas dos produtos, tendo de se procurar o laboratório através da descrição do aspeto físico da embalagem, que nem sempre corresponde à realidade.

Por outro lado, existe ainda alguma desconfiança perante os medicamentos genéricos sendo frequentemente necessário explicar as diferenças destes para os medicamentos de marca e entre os diferentes laboratórios existentes.

#### Dificuldades iniciais no atendimento

Uma das principais lacunas que aponto no plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) é a inexistência de formação na comunicação com os utentes, uma vez que devemos adequar a linguagem ao nível sociocultural de cada utente.

Além do mais, considero que seria vantajoso ter algumas bases na área da psicologia, uma vez que os utentes recorrem constantemente aos profissionais da farmácia para desabafar e procurar aconselhamento sobre os mais variados problemas pessoais.

Por outro lado, a insegurança inicial em comunicar com o utente e a falta de confiança por vezes inibiu-me de realizar o atendimento sozinha, devido ao medo de que algum erro pudesse ter repercussões na saúde do utente.

#### Dificuldade no aconselhamento

O desconhecimento, em grande parte dos casos, das formas farmacêuticas comercializadas para cada princípio ativo e principalmente dos regimes posológicos

normalmente prescritos foi uma grande barreira no aconselhamento farmacêutico. Além disso, existem imensos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e suplementos alimentares que não abordamos durante o curso, o que dificulta a sua indicação, prestação de esclarecimentos e realização de vendas cruzadas.

Por outro lado, a existência de várias indicações terapêuticas para o mesmo medicamento foi um fator de insegurança para o aconselhamento sem recorrer à ajuda de outros profissionais.

### Falhas no Plano Curricular do MICF

Embora o Plano Curricular do MICF seja bastante diversificado, considero que o ensino deveria ser mais prático em algumas unidades, uma vez que nem sempre conseguimos aplicar a teoria na realidade do dia-a-dia. Neste contexto, penso que se deveria apostar em estudos de casos clínicos direcionados para o aconselhamento farmacêutico de produtos de venda livre, que são as situações mais vulgares encontradas na farmácia e que concedem uma enorme autonomia e distinção do farmacêutico.

O plano de estudos da unidade curricular de Dermofarmácia e Cosmética deveria ser repensado de modo a ser mais direcionado para o aconselhamento farmacêutico, dado que foi a área em que tive maior dificuldade em aplicar os meus conhecimentos.

Do mesmo modo, a unidade curricular de Preparações de Uso Veterinário não está devidamente adaptada para a resolução dos problemas mais frequentes com que nos deparamos na prática.

Outra área em que senti grandes dificuldades foi na nutrição e suplementos alimentares, dado existir uma grande variedade de produtos que desconhecia e não ter as bases teóricas suficientes para prestar aconselhamento. Além do mais, considero que uma das maiores falhas é a unidade curricular de Dispositivos Médicos não ser obrigatória, uma vez que seria essencial conhecer o funcionamento dos produtos e o aconselhamento adequado.

No que diz respeito à formação sobre o programa Sifarma 2000® dada na faculdade, considero que é muito escassa e demasiado direcionada para o acompanhamento farmacoterapêutico que ainda é pouco realizado. Deste modo, considero que foi no estágio de verão em farmácia comunitária que aprendi realmente a manipular as ferramentas mais importantes deste sistema, o que me foi extremamente útil para o estágio curricular.

Por fim, considero que seria bastante vantajoso existir mais estágios curriculares durante o MICF, de modo a conceder aos estudantes a oportunidade de adquirir um maior nível de competências e consolidar conhecimentos.

## 2.3. Oportunidades

### Diversidade dos utentes

A localização da Farmácia Central permitiu-me o contacto com um público muito heterogéneo, o que me possibilitou deparar com diversas situações e aprender a adaptar o discurso aos diferentes utentes.

Assim, realizei atendimentos a muitos utentes ocasionais aos quais pude na sua maioria aconselhar produtos de venda livre e a imensos turistas estrangeiros, o que considero uma experiência muito enriquecedora na medida em que me permitiu praticar a língua inglesa em contexto clínico.

Grande parte dos utentes da farmácia são fidelizados e portanto tem uma ficha criada que permite o rápido acesso ao seu histórico de compras, facilitando assim o atendimento e o acompanhamento do utente, principalmente dos idosos e doentes polimedicados. A lealdade à farmácia permite, acima de tudo, uma intervenção mais ativa do farmacêutico na saúde e bem-estar dos utentes e a criação de uma relação de confiança muito benéfica para todos.

### Formações

Considero a formação contínua uma oportunidade de enorme valor para alargar e aprofundar os conhecimentos nas mais variadas áreas da farmácia comunitária.

Além da formação constante prestada pela equipa da Farmácia Central, tivemos liberdade de assistir a todas as formações externas para as quais a farmácia era convidada e às formações internas concedidas pelos delegados de informação médica que apresentavam vários produtos de venda livre.

### Intervenção no sistema de organização da farmácia

A equipa da Farmácia Central incentivou-nos desde o início a sugerir melhorias nos serviços prestados e na organização dos lineares da farmácia. Deste modo, tive a oportunidade de juntamente com outra colega estagiária, de reestruturar a disposição dos produtos em exposição de forma a criar novas estratégias para atrair o utente.

### Cooperação com outros profissionais de saúde

Durante o estágio tive a oportunidade de assistir a uma campanha de dermocosmética realizada por uma promotora da B-lift® na qual pude participar, que tinha o intuito de apresentar os produtos de algumas gamas através da realização de uma limpeza de pele e

teste dos produtos considerados adequados a cada pessoa, o que me ensinou várias técnicas de aconselhamento nesta área e principalmente sobre os produtos desta marca.

A Farmácia Central proporciona semanalmente um serviço de consultas de dietética e nutrição. A cooperação com uma nutricionista permitiu-me conhecer a gama de produtos da EasySlim® e a reforçar conhecimentos nesta área.

#### Colaboração com uma instituição

A Farmácia Central tem uma parceria com uma instituição de Coimbra que implica o fornecimento da medicação e outros produtos necessários para os utentes que integram a Unidade de Cuidados Continuados e o Lar.

O aviamento das receitas e a dispensa dos produtos constituiu uma oportunidade para ganhar alguma autonomia a trabalhar com o Sifarma 2000® e a ter um maior contacto com diversos produtos, sem a pressão de ter um utente à frente.

#### Cedência de estupefacientes e psicotrópicos

Considero o contacto com a cedência de estupefacientes e psicotrópicos uma oportunidade uma vez que me permitiu aprender as normas estreitas e os cuidados a ter na dispensa destes medicamentos e além disso, possibilitou-me aprender a lidar com utentes mais distintos.

## **2.4. Ameaças**

#### Farmácias envolventes

A concorrência devida ao elevado número de farmácias próximas da Farmácia Central na baixa de Coimbra constitui uma ameaça na medida em que há maior dispersão dos utentes e consequentemente, pode haver redução de oportunidade de os estagiários contactarem com casos diferentes.

Assim, há sempre a preocupação em conquistar e fidelizar os utentes o que pode conduzir a situações em que o atendimento demore menos do que seria preciso de modo a evitar a procura de outras farmácias por parte dos utentes que estão à espera.

Porém, dada a longa história da Farmácia Central e especialmente devido aos seus colaboradores, existe a cativação dos utentes através da prestação de um atendimento e serviços de elevada qualidade.

### Medicamentos esgotados

A falta de medicamentos verificada diariamente, quer seja por rutura de *stock* ou pelo produto se encontrar esgotado ou descontinuado, compromete a terapêutica de muitos utentes.

Apesar de a farmácia tentar encontrar alternativas de aquisição desses medicamentos, os utentes muitas vezes não compreendem a situação e ficam bastante descontentes com a farmácia. Embora existam por vezes alternativas terapêuticas, a maioria dos utentes não as aceitam e dirigem-se a outras farmácias na esperança de encontrar o que precisam.

### Alteração dos preços

As constantes alterações do PVP (Preço de Venda ao Público) dos medicamentos geram uma enorme desconfiança por parte dos utentes, que frequentemente culpam a farmácia pelo aumento dos preços.

Além disso, o facto de as guias de tratamento incluírem um custo mínimo para cada medicamento constitui uma ameaça ao atendimento, uma vez que os utentes não entendem que esses valores nem sempre estão atualizados.

### Locais de venda de MNSRM

A permissão de venda de MNSRM noutros locais além das farmácias comunitárias constitui uma ameaça para os farmacêuticos e principalmente para a saúde pública.

Estes estabelecimentos encontram-se em grande número e muito acessíveis à população, atingindo preços inferiores aos conseguidos nas farmácias e oferecendo diversos tipos de promoções. Por estas razões, os utentes tendem a dirigir-se a estes locais, não tendo a noção dos perigos da automedicação, desvalorizando assim em parte o valor do farmacêutico.

Além do mais, a venda de medicamentos nestes locais é efetuada a maioria das vezes por profissionais que não são devidamente qualificados e que não prestam nenhum tipo de aconselhamento ou indicação.

Deste modo, é cada vez mais necessária a educação da população para o uso racional do medicamento e para a importância da farmácia como espaço de saúde e bem-estar. Portanto, é urgente que o farmacêutico se afirme como profissional de saúde imprescindível e de confiança para combater a concorrência e promover a saúde pública, demonstrando-se assim a importância de prestar um aconselhamento de qualidade.

### Conjuntura económica

O cenário socioeconómico do país nos últimos anos prejudicou o setor da saúde e o poder de compra da população. As dificuldades económicas dos utentes observam-se na solicitação constante dos genéricos mais baratos, na escolha da compra dos medicamentos que acham mais essenciais em detrimento de outros e nos elevados pedidos de crédito. Assim sendo, há a necessidade de insistir na adesão à terapêutica e alertar os utentes sobre as implicações prejudiciais de uma terapêutica incompleta.

Este panorama também afeta a sustentabilidade das farmácias com as reduções dos preços dos medicamentos e margens de lucro, com a diminuição da comparticipação pelo Sistema Nacional de Saúde (SNS), com o aumento de dificuldade em vender, entre outros. Consequentemente, verifica-se uma redução da contratação de profissionais de saúde neste setor, principalmente de farmacêuticos.

### Receitas manuais

A possibilidade da prescrição através de receitas manuais em determinados casos constitui uma ameaça dado que há dificuldades constantes na interpretação da caligrafia, o que pode conduzir a erros na dispensa dos produtos. Além disso, o farmacêutico vê-se muitas vezes obrigado a recusar a receita médica por não conter todos os parâmetros válidos.

Assim, sempre que um utente me apresentava uma receita manual, tinha de me dirigir a um colaborador para verificar a dispensa.

## **3. Casos Práticos**

Uma vez que este estágio curricular decorreu maioritariamente no Inverno, as situações mais frequentes para as quais tive de prestar aconselhamento farmacêutico foram sintomas gripais. Além disso, deparei-me com vários casos de dores articulares e musculares, infeções fúngicas e distúrbios do trato gastrointestinal.

### Caso I

Dado que durante estes 4 meses de estágio foi-me três vezes solicitada uma contraceção oral de emergência, passo a descrever um desses aconselhamentos:

Um casal de jovens dirigiu-se ao balcão solicitando a pílula do dia seguinte e quando coloquei as questões necessárias consegui perceber que tinha havido uma relação sexual sem nenhuma proteção na noite anterior, porque não tinham um preservativo disponível e a

jovem não usava nenhum tipo de método contraceptivo. De seguida questionei sobre quando tinha sido a última menstruação e a jovem não soube dizer o dia específico, apenas que tinha sido há pouco mais de 1 semana.

Deste modo, cedi uma pílula com 1500 µgramas de levonorgestrel que pode ser tomada até 72h após a relação sexual, é de toma única e bastante segura. Comecei por alertar que deveria proceder à toma o mais rápido possível dado a eficácia variar conforme o intervalo de tempo decorrido desde a relação sexual, adverti que se a utente experienciasse vômitos e/ou diarreia até 3h após a toma esta teria de ser repetida, que poderia sentir alguns efeitos adversos como cefaleias e náuseas, que a menstruação poderia vir atrasada ou antecipada e caso não surgisse, deveria realizar um teste de gravidez.

Além disso, salientei o facto de a contraceção de emergência não ser um método contraceptivo regular, pelo que deveria procurar aconselhamento para iniciar outro método contraceptivo eficaz e por fim, aconselhei o uso de preservativo devido a não estar protegida de uma gravidez até ao final do ciclo e que este é o único método que confere proteção contra doenças sexualmente transmissíveis.

## Caso 2

Uma utente solicitou aconselhamento farmacêutico para remover os piolhos do cabelo da filha de 8 anos que acredita terem sido transmitidos na escola. Assim, indiquei-lhe o champô de tratamento Paranix® dado ser fácil de usar e rápido a atuar.

Procedi às recomendações necessárias, explicando que deveria aplicar uma quantidade uniforme no cabelo seco por todo o cabelo e couro cabeludo, massajando toda a extensão do cabelo, desde as raízes até às pontas, não menosprezando a zona das orelhas e do pescoço. Após 15 minutos deveria dividir o cabelo em diferentes partes e penteá-lo com o pente anti-piolhos incluído de forma a remover as lêndeas e piolhos, limpando-o regularmente durante o processo. De seguida, deveria adicionar água ao cabelo de forma a criar espuma, massajando muito bem e por fim, enxaguando bem de forma a eliminar todo o produto, não sendo necessário a utilização de outro champô de lavagem.

Alertei para o facto de que se voltasse a encontrar piolhos quando estivesse a verificar a eficácia do tratamento, que devia proceder à repetição do tratamento 7 dias após o primeiro, para garantir a remoção completa de todos os piolhos e lêndeas.

Por fim, aconselhei a lavagem a altas temperaturas de toda a roupa utilizada pela criança, lavagem e desinfeção de escovas, pentes, chapéus, acessórios do cabelo e que a menina não

partilhasse nenhum destes objetos com outras crianças, devido ao risco de voltar a ser infestada.

Além do mais, avisei a senhora de que deveria verificar se não havia mais nenhum elemento da família infestado e aconselhei a utilização de Paranix Repel® quando houver novamente um surto de piolhos, que é um *spray* de utilização diária de prevenção.

#### **4. Conclusões**

Ao longo da minha formação académica fui-me apercebendo do que é ser Farmacêutica e a importância desta profissão perante a sociedade. Na Farmácia Comunitária, para além de necessitarmos de um vasto leque de conhecimentos e habilidades constantemente atualizados, também é importante apresentar empatia e uma capacidade de comunicação adequada a cada utente.

Os estágios curriculares são uma oportunidade de aplicar todos os conhecimentos adquiridos na faculdade e de contactar com a realidade do mercado de trabalho, pois só na prática é que se consegue ter uma maior noção da profissão. Além disso, apercebi-me que nesta área há uma necessidade enorme de formação contínua dado o mercado farmacêutico estar em constante evolução e inovação.

Apesar do receio inicial em efetuar o atendimento ao público, foi muito gratificante sentir a confiança depositada tanto pela equipa da farmácia, como pelos utentes que, na sua maioria, demonstravam bastante compreensão e carinho.

Estou muito grata por tudo o que aprendi e pelas pessoas que conheci na Farmácia Central, pelo que foi, sem dúvida, uma experiência bastante enriquecedora. Estes meses de estágio foram fundamentais para me ajudar a tornar uma melhor profissional, não só a nível técnico mas também humano.

Embora o papel do farmacêutico seja cada vez mais valorizado, ainda há muito por onde evoluir para marcar a diferença como profissionais de saúde indispensáveis e importantes agentes de saúde pública, providenciando serviços especializados e diferenciados e prestando os melhores cuidados de saúde e bem-estar aos nossos utentes.

## **Capítulo II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica**

## **Lista de abreviaturas**

**AIM** – Autorização de Introdução no Mercado

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**IF** – Indústria Farmacêutica

**HPLC** - *High Performance Liquid Chromatography*

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SWOT** – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## **I. Introdução**

O farmacêutico é um profissional de saúde que atua em diversos ramos do medicamento, sendo considerado o especialista do medicamento e agente de saúde pública.

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) está organizado de modo a criar as bases teóricas e práticas necessárias para formar futuros profissionais aptos a enveredar por variadas áreas de forma competente, responsável e especialmente focados no utente e na saúde pública.

Os estágios curriculares do MICF são o primeiro contacto com a realidade do mercado de trabalho e permitem aplicar na prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, assim como representa um período de intensa aprendizagem e desenvolvimento de novas competências. Além do plano de estudos muito completo e diversificado, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) proporciona a oportunidade única da realização de um estágio curricular na área da Indústria Farmacêutica (IF).

Deste modo, decidi realizar um estágio neste setor dado estar em constante desenvolvimento e por achar importante como futura farmacêutica, perceber como funciona parte do processo percorrido pelo medicamento até entrar no mercado. Para tal elegi a Indústria Farmacêutica localizada no concelho de Tondela, distrito de Viseu, que me acolheu de Maio até ao final de Julho.

Este relatório visa efetuar uma análise SWOT sobre o período de estágio realizado sob a orientação da Eng.<sup>a</sup> Catarina Silva no departamento do Controlo de Qualidade no setor de Estudos de Estabilidade, procurando respeitar a confidencialidade apropriada associada à empresa. Através deste método, pretendo identificar os pontos fortes (Strengths) e os pontos fracos (Weaknesses) e as oportunidades (Opportunities) e ameaças (Threats) que influenciaram o meu estágio.

### **Setor de Estudos de Estabilidade**

Todas as empresas que detêm autorização de introdução no mercado (AIM) devem ter um departamento de Controlo de Qualidade, que foi onde o meu estágio decorreu, mais especificamente no setor de Estudos de Estabilidades.

Os estudos de estabilidade têm como objetivo analisar as alterações sofridas ao longo do tempo por um dado medicamento sob condições específicas de determinados fatores ambientais, como a temperatura e humidade, que podem modificar o medicamento, com a

finalidade de determinar as condições de armazenamento apropriadas e definir um prazo de validade.

Existem câmaras de estabilidade dentro das instalações com as condições definidas para o armazenamento das amostras para se efetuar os estudos de estabilidade, que permitem cobrir todas as zonas climáticas, incluindo contentores semi-permeáveis. No caso dos estudos ongoing as amostras são armazenadas nas condições descritas para o produto, por outro lado, no caso dos estudos completos realizam-se testes sob outras condições (aceleradas e intermédias, se aplicável). A gestora do setor elabora uma lista dos produtos que têm de ser analisados no mês e distribui essas análises pela equipa do laboratório.

É necessário registar todas as utilizações dos equipamentos nos respetivos Logbooks, assim como a descrição da preparação de soluções e utilização de reagentes e padrões. Todos os ensaios efetuados têm de ser registados e descritos para se enviar à gestora do setor, que os verifica e valida os seus resultados.

Os ensaios analíticos que realizei mais frequentemente foram doseamentos através de titulação, medição do pH, descrição do aspeto do produto, volume extraível das formas líquidas, contagem de partículas sub-visíveis, ensaios de dissolução com análise dos resultados por espectrofotometria, turbidimetria, entre outros. Além disso, pude contactar com a técnica de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) para efetuar diversos tipos de doseamentos, tendo-me sido ensinado a manusear o equipamento e o *software* e a analisar resultados.

## **2. Análise SWOT**

### **2.1. Pontos fortes**

#### Formação académica

Ao longo do meu percurso académico, usufruí de várias cadeiras cujo conteúdo e conhecimentos adquiridos, tanto a nível teórico como prático-laboratorial, me ajudaram a compreender e adaptar às tarefas realizadas, assim como a entender o funcionamento e as normas do Controlo de Qualidade e principalmente, do setor de Estudos de Estabilidade.

Além disso, o curso proporcionou-me o desenvolvimento de uma capacidade de organização eficaz do trabalho e do tempo, face ao nível de trabalho e aprendizagem impostos.

### Formações

No início do estágio usufruí de formações internas que me ajudaram a integrar na empresa e me possibilitaram entender melhor o seu funcionamento, as suas regras/orientações e código de conduta. Assim, pude ter uma noção geral das Boas Práticas de Fabrico, da Gestão da Qualidade que engloba a Qualidade, Ambiente, Saúde e Segurança, e da Farmacovigilância, o que considero ser muito relevante para a minha formação.

Além disso, a formação inicial sobre o funcionamento do Controlo de Qualidade e especialmente, sobre o setor de Estudos de Estabilidades foi muito útil para melhor compreensão da dinâmica deste setor e do trabalho realizado.

### Desenvolvimento de competências

Ao longo do período de estágio foi-me possível realizar diversas tarefas diferentes nas quais pude aplicar o que aprendi com as formações e com os conhecimentos transmitidos pelos colaboradores do laboratório e principalmente, consegui assimilar grande parte do que me foi ensinado na faculdade.

Tive a oportunidade de acompanhar várias pessoas da minha equipa, cada uma com os seus encargos e responsáveis pela análise de produtos diferentes. Assim, aprendi a trabalhar em equipa e foi-me permitido desenvolver destreza e autonomia na realização de diversos ensaios laboratoriais e no manuseio de vários equipamentos.

Além disso, o facto de me delegarem várias tarefas e me concederem autonomia na sua realização, embora sempre supervisionada, contribuiu para aprender a interpretar os procedimentos, a efetuar os registos devidos, a planear o meu trabalho, a gerir o tempo que tinha disposto e a desenvolver o meu espírito crítico face à análise de resultados.

### Equipa

Todos os colaboradores com quem tive contacto, mesmo não pertencendo ao meu setor, demonstraram enorme simpatia e manifestaram sempre disponibilidade e preocupação em ajudar.

A equipa multidisciplinar com quem trabalhei facilitou a minha integração, soube sempre orientar-me da melhor forma e esclarecer as minhas dúvidas, tendo sempre o cuidado de me dar as devidas informações e explicações de forma detalhada.

Além do mais, a equipa onde estava integrada reconheceu e valorizou o trabalho que desempenhei, depositando sempre confiança em mim.

### Instalações e equipamentos

As instalações da empresa estão organizadas e estruturadas de modo a proporcionar um bom ambiente de trabalho, de maneira a promover a produtividade, e de forma a garantir a qualidade dos medicamentos, tendo cada tarefa o seu próprio espaço definido para ser realizada.

Além disso, os vários laboratórios encontram-se devidamente equipados e atualizados, o que me garantiu as condições necessárias para uma boa aprendizagem e me permitiu efetuar diversos métodos de análise.

### Diversidade de produtos

A empresa produz uma enorme variedade de medicamentos e conseqüentemente, de formas farmacêuticas, que inclui antibióticos, soluções injetáveis e formas sólidas e semissólidas. Desta forma, pude contactar com as diferentes especificações e métodos de análise de cada produto a nível do controlo de qualidade e assim, realizei várias tarefas distintas.

### Melhoria da Língua Inglesa a nível técnico

Dado que durante a faculdade tive muito pouco contacto com a Língua Inglesa, foi muito vantajoso para mim durante o estágio ter grande parte da informação que necessitei escrita em Inglês, desde procedimentos de utilização de equipamentos, métodos de análise de medicamentos, métodos de preparação de soluções e fichas de reagentes. Assim, consegui melhorar o meu vocabulário técnico e científico e a interpretação.

## **2.2. Pontos fracos**

### Duração do estágio

Considero que a duração do estágio em IF é insuficiente para os estagiários desenvolverem na totalidade as capacidades necessárias para realizar e apreender todos os conceitos necessários à elaboração de um trabalho autónomo e com qualidade. Se houvesse a oportunidade de alargar o período de estágio nesta área, seria benéfico tanto para o estagiário uma vez que conseguiria adquirir um maior nível de conhecimentos e competências, como para a empresa, dado existir um longo período de adaptação até o estagiário conseguir ter um impacto positivo no trabalho da empresa.

Por outro lado, o tempo também é escasso perante a variedade de situações que surgem diariamente no laboratório e não permitiu conhecer de forma mais detalhada a organização de uma empresa desta dimensão.

#### Pouco contacto com a técnica de HPLC

Uma vez que este método de análise é o mais utilizado no controlo de qualidade da IF e que durante o curso não houve muito contacto com este equipamento, teria sido proveitoso ter adquirido maior autonomia nesta técnica, dado a manipulação do *software* ser complexa e variar consoante o modelo do equipamento, além dos componentes do sistema cromatográfico também serem diferentes, ainda que o funcionamento base seja igual em todos os equipamentos.

#### Ausência de rotatividade entre setores

Apesar de ter noção que a duração do estágio não permite a rotação entre setores, acho que teria sido benéfico ter passado algum tempo em setores diferentes, dado que só tive oportunidade de ter uma visita guiada ao laboratório de Microbiologia e a uma área de produção e apenas deu para ficar com uma vaga ideia sobre o funcionamento destas áreas.

#### Pouco contacto com farmacêuticos

Durante este período contactei com muitos profissionais, incluindo alguns farmacêuticos. Contudo, o meu estágio cingiu-se ao trabalho de laboratório, onde predominam outros grupos profissionais e apercebi-me que os farmacêuticos têm outro tipo de funções, as quais não tive oportunidade de acompanhar.

### **2.3. Oportunidades**

#### Estágio na Indústria Farmacêutica

O facto de a FFUC ser a única faculdade de farmácia do país que permite a oportunidade única de realizar um estágio curricular no setor da IF é uma enorme vantagem competitiva para os seus estudantes, dado que têm a possibilidade de contactar com grandes empresas de qualidade e adquirir um pouco de experiência na área.

Esta experiência é muito enriquecedora para o nosso percurso académico e profissional, uma vez que nos permite adquirir conhecimentos muito vastos e entender realmente como funciona o mercado de trabalho neste setor e além do mais, permite-nos aprender a trabalhar em equipa e com prazos definidos.

O setor da IF é um excelente caminho para construir uma carreira farmacêutica dado ser um meio muito dinâmico e versátil e, por isso, necessita de uma formação contínua e rigorosa, sendo assim uma área muito desafiante e aliciante.

#### Empresa multinacional

A oportunidade de ter estagiado numa empresa multinacional de elevada notabilidade, com valores e objetivos instituídos, uma imensa organização e normas estabelecidas e preocupação em atingir o maior grau de qualidade e rigor, permitiu-me obter competências de enorme importância para o meu futuro percurso profissional como farmacêutica.

#### Componente prática-laboratorial

O trabalho prático-laboratorial que tinha de desenvolver ao longo do estágio permitiu-me consolidar os conhecimentos obtidos durante o curso, conseguindo assim aprimorar o meu desempenho nas técnicas com as quais já tinha tido contacto prático e aprendendo a realizar novas práticas que apenas me tinham sido ensinadas teoricamente.

Assim, o facto de ter tido componente prática-laboratorial a várias cadeiras durante a minha formação académica, concedeu-me uma maior segurança na realização do meu trabalho e a possibilidade de ter uma maior autonomia a realizar diferentes tarefas.

#### Multidisciplinaridade do MICF

O facto de o curso de MICF ser extremamente versátil proporciona-nos as ferramentas necessárias para termos a possibilidade de seguir diferentes ramos ligados à área farmacêutica.

## **2.4. Ameaças**

#### Plano de estudos pouco orientado para a Indústria Farmacêutica

O MICF oferece uma formação muito versátil com o intuito de criar profissionais aptos a seguir por diversas áreas, embora subsista um maior foco na Farmácia Comunitária. Todavia seria vantajoso incluir uma maior componente prática direccionada para a IF, assim como deveria haver uma constante atualização técnico-científica.

#### Falta de experiência

Inicialmente, a minha reduzida experiência técnica e o medo de errar fez com que não aproveitasse devidamente os ensinamentos que me estavam a ser incutidos. Além disso,

deparei-me com dificuldades em interpretar métodos das análises laboratoriais dos medicamentos, nomeadamente na identificação dos reagentes químicos e nos cálculos necessários a efetuar. Contudo, esses entraves foram sendo ultrapassados ao longo do tempo.

#### Reduzida presença de farmacêuticos na IF no geral

Os farmacêuticos são profissionais com um nível elevado de competências que proporcionam um enorme valor às diversas áreas da IF e embora sejam os especialistas do medicamento, não se verifica uma distribuição das suas funções por todo o ciclo do medicamento.

Desta forma, encontram-se atualmente em menor número comparado com outros grupos profissionais, verificando-se uma tendência de contratação desses grupos, o que constitui uma barreira à entrada de novos farmacêuticos nesta área cada vez mais competitiva.

Contudo, este caso não se aplica à Indústria Farmacêutica onde realizei o estágio curricular, uma vez que esta emprega um número considerável de farmacêuticos em diversas áreas.

#### Crise económica

A crise económica atual afeta os mais diversos setores económicos, nomeadamente o setor farmacêutico, onde se tiveram de implementar várias medidas que condicionam o crescimento e o investimento das IF. A racionalização de custos constitui uma grande ameaça para o futuro dos farmacêuticos, verificando-se uma taxa de contratação reduzida no setor farmacêutico.

### **3. Conclusão**

A IF é uma área que está em constante evolução, sendo indispensável uma formação contínua. Este estágio foi uma enorme oportunidade para criar uma nova perspetiva sobre a IF e concedeu-me um maior conhecimento sobre o funcionamento deste setor, assim como parte do papel fundamental que os farmacêuticos podem desempenhar.

Embora a duração e a planificação do estágio não tenha tornado possível a rotatividade entre setores, estes três meses no setor de Estudos de Estabilidade foram fundamentais para a aplicação e aprofundamento dos conhecimentos adquiridos durante o curso, tanto a nível prático como teórico, além de que permitiram o desenvolvimento de novas competências,

tornando-me numa futura profissional mais autónoma e interessada por diferentes áreas, algumas até então desconhecidas.

O apoio teórico apropriado e a notável colaboração por parte de toda a equipa contribuíram para que a minha formação se tornasse mais completa. Para além das competências técnicas e científicas melhoradas, aprendi a apreciar ainda mais o trabalho em equipa, a gerir melhor o tempo e a planificar tarefas. Assim, consegui obter uma perceção mais real sobre o mercado de trabalho, que é cada vez mais competitivo, e sinto-me mais apta a integrá-lo de forma mais competente.

A análise SWOT efetuada permitiu-me refletir sobre os pontos fortes do estágio que devo apreciar e ter em conta no futuro e os pontos fracos que devo aperfeiçoar para ser uma melhor farmacêutica. Além disso, serviu para reconhecer as oportunidades que surgiram e tirar o melhor partido delas, assim como as ameaças encontradas, as quais terão de ser contrariadas.

A oportunidade de ter integrado uma empresa de elevada notoriedade e exigência, tornou esta experiência muito enriquecedora, tendo superado todas as expectativas. Porém, tenho consciência que ainda há muito para aprender e que cabe-nos a nós, futuros farmacêuticos, desenvolver as competências necessárias para acrescentar valor a este setor.

Do meu ponto de vista, as Faculdades de Farmácia deveriam tentar promover mais estágios curriculares ou estágios de verão, dando a possibilidade aos estudantes de contactarem com várias vertentes profissionais, uma vez que este tipo de experiências permite-nos obter imensos conhecimentos que só se conseguem aprender na prática.

## **Capítulo III – Papel protetor dos estrogénios na aterosclerose**

## **Lista de Abreviaturas**

<b>17-β-Estradiol</b> – Estradiol	<b>LDL</b> – Lipoproteína de baixa densidade
<b>27-HC</b> – 27-Hidroxicolesterol	<b>LP(a)</b> – Lipoproteína (a)
<b>ABC-A1</b> – ATP-binding cassette transporter	<b>MCP-1</b> – Proteína quimiotática de monócitos-1
<b>ApoA1</b> – Apolipoproteína A1	<b>MMP</b> – Metaloproteinases da matriz
<b>ApoB</b> – Apolipoproteína B	<b>NADPH</b> – Fosfato dinucleótido de nicotinamida e adenina
<b>ApoE</b> – Apolipoproteína E	<b>NO</b> – Óxido Nítrico
<b>AVC</b> – Acidente Vascular Cerebral	<b>Ox-LDL</b> – Lipoproteínas de baixa densidade oxidadas
<b>CEE</b> – Estrogénios equino-conjugados	<b>RE</b> – Retículo endoplasmático
<b>DAC</b> – Doença Arterial Coronária	<b>ROS</b> – Espécies Reativas de Oxigénio
<b>DCV</b> – Doenças Cardiovasculares	<b>SERM</b> – Moduladores Seletivos dos Recetores de Estrogénios
<b>E3</b> – Estriol	<b>SOD</b> – Superóxido dismutase
<b>EAM</b> – Enfarte Agudo do Miocárdio	<b>TG</b> – Triglicéridos
<b>ECM</b> – Matriz extracelular	<b>THS</b> – Terapêutica Hormonal de Substituição
<b>eNOS</b> – Forma endotelial da Sintase do Óxido Nítrico	<b>TNF-α</b> – Fator de necrose tumoral alfa
<b>ER</b> – Recetor de estrogénios	<b>VCAM-1</b> – Moléculas de Adesão Celular Vascular-1
<b>ER-α</b> – Recetor de estrogénios alfa	<b>VEGF</b> – Fator de Crescimento Endotelial Vascular
<b>ER-β</b> – Recetor de estrogénios beta	<b>VLDL</b> – Lipoproteína de muito baixa densidade
<b>GPGR</b> – Recetor de estrogénio acoplado à proteína G	<b>VSMC</b> – Células do Músculo Liso Vascular
<b>HDL</b> – Lipoproteína de alta densidade	
<b>ICAM-1</b> – Moléculas de adesão intracelular-1	
<b>IL-1</b> – Interleucina-1	
<b>IL-6</b> – Interleucina-6	
<b>IL-8</b> – Interleucina-8	
<b>IMT</b> – Espessura íntima-média	

## **Resumo**

A aterosclerose e as suas complicações são uma das principais causas de mortalidade nos países desenvolvidos em ambos os sexos. Embora as mulheres apresentem menor incidência de doenças cardiovasculares do que os homens da mesma idade, essa diferença desaparece após a menopausa. Apesar de ser evidente a contribuição das hormonas esteroides sexuais para as diferenças que existem entre os sexos no que diz respeito ao sistema cardiovascular, é necessário investigar melhor as causas dessas diferenças para se poder personalizar estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças cardiovasculares. Os estrogénios endógenos exercem diversas funções reguladoras através da ativação de recetores de estrogénios, podendo ter um efeito terapêutico na redução do risco de doenças cardiovasculares, incluindo a aterosclerose. A utilização da terapêutica hormonal de substituição após a menopausa é um dos assuntos clínicos mais controversos nas mulheres, uma vez que estão descritos benefícios, nomeadamente relacionados com a saúde cardiovascular, mas também riscos associados, tendo-se verificado nos últimos anos uma redução da sua prescrição da terapêutica. Porém, tem-se estudado as vantagens associadas à individualização da terapêutica, variando o tipo de substâncias ativas, dose, via de administração, duração e idade de início da implementação. Com esta monografia, pretende-se investigar o papel protetor dos estrogénios na aterosclerose e de que forma a menopausa influencia o aumento da incidência de doenças cardiovasculares nas mulheres, assim como o balanço do benefício/risco da terapêutica hormonal de substituição após a menopausa.

**Palavras-chave:** Doenças Cardiovasculares; Aterosclerose; Estrogénios; Menopausa; Terapêutica Hormonal de Substituição

## **Abstract**

Atherosclerosis and its complications are one of the leading causes of mortality in developed countries in both genders. Although women report a lower incidence of cardiovascular disease than men of the same age, this difference disappears after menopause. Despite the clear contribution of steroid hormones to the differences between the genders in regard to the cardiovascular system, it is necessary to investigate the causes of these differences in order to customize strategies for prevention, diagnosis and treatment of cardiovascular diseases. The endogenous estrogens exert several regulatory functions through the activation of estrogens receptors and may have a potential therapeutic effect in reducing the risk of cardiovascular diseases, including atherosclerosis. The use of hormone replacement therapy after menopause is one of the most controversial clinical issues in women, since there are known benefits particularly related to cardiovascular health, but also associated risks, and in recent years there has been a reduction in its prescription. However, the advantages associated with the individualization of therapeutics are being studied, varying the type of active substances, dosage, route of administration, duration and age of onset of the implementation of the therapy. With this monograph, it is intended to investigate the protective role of estrogens on atherosclerosis and how menopause affects the increased incidence of cardiovascular disease in women, as well as the benefit/risk balance of the hormone replacement therapy after menopause.

**Keywords:** Cardiovascular Diseases; Atherosclerosis; Estrogens; Menopause; Hormone Replacement Therapy

## **I. Introdução**

A aterosclerose é uma das principais causas de morbidade e mortalidade cardiovascular [1–3]. É uma doença na qual as lipoproteínas desempenham um papel importante, com formação de placas na parede das artérias através da acumulação lipídica, a qual por sua vez provoca espessamento e inflamação da camada íntima, fibrose, calcificação, necrose e possivelmente, rutura [1,4–6].

A evolução das placas ateroscleróticas promove o estreitamento do lúmen arterial e ainda a precipitação de trombos que podem obstruir ou impedir o fluxo sanguíneo. Esta limitação do aporte sanguíneo encontra-se mesmo associado a diversas doenças consoante o órgão e/ou estrutura afetada, nomeadamente a Doença Arterial Coronária (DAC) e o Enfarte Agudo do Miocárdio (EAM) no caso do coração, o Acidente Vascular Cerebral (AVC) isquémico no cérebro ou a doença arterial periférica, nas extremidades inferiores [1,2,4,6,7].

As doenças cardiovasculares (DCV) são mais comuns nos homens do que nas mulheres em idade pré-menopausa [8–10]. Aquando da menopausa, o risco cardiovascular das mulheres aumenta, ficando mais suscetíveis a DCV, o que sugere que as hormonas esteroides sexuais influenciam a sensibilidade à doença [3,6,8].

Os estrogénios são hormonas esteroides com diversas funções, produzidas em todos os vertebrados e alguns invertebrados e sintetizadas em vários órgãos, cujos níveis variam durante a vida e consoante as condições fisiológicas e patológicas [8,11,12]. Os efeitos dos estrogénios são mediados por recetores específicos que reconhecem e ligam as hormonas, transmitindo a sua informação [3,5,7,12,13].

Os estrogénios endógenos protegem as mulheres na pré-menopausa das DCV, sendo que o decréscimo dos seus níveis tem sido implicado no desenvolvimento de várias doenças, particularmente do sistema cardiovascular [3,6,11,14,15]. Contudo a terapêutica hormonal de substituição (THS) nas mulheres após a menopausa mantém-se controversa [11,15–17].

## **2. Doenças Cardiovasculares**

### **2.1. Dimorfismo sexual**

Os cromossomas sexuais parecem ter uma grande contribuição para as diferenças sexuais nos perfis lipídicos sistémicos [8]. Um dos aspetos mais relevantes das diferenças sexuais na aterosclerose é a diferente anatomia das artérias coronárias entre os homens e as mulheres,

tendo as mulheres corações e artérias coronárias de menor tamanho e um menor lúmen da artéria coronária [16].

Os homens têm maior risco de desenvolver DAC e têm maiores níveis de moléculas de adesão expressas no tecido vascular, o que pode contribuir para a maior predisposição para aterosclerose [5]. A predominância de androgênios tem sido proposta como sendo o fator que contribui para esta predisposição para as DCV no sexo masculino. Embora os efeitos da testosterona na aterogênese ainda não estejam esclarecidos, a diminuição dos níveis desta hormona induzidos pela idade ou por tratamentos depressores dos androgênios, está associada a um aumento de risco de DAC e ocorre em ambos os sexos [6,9,11,18].

As primeiras manifestações da aterosclerose coronária têm um atraso de 10 anos nas mulheres comparado com os homens, havendo uma baixa incidência de DAC antes dos 64 anos. Estas diferenças entre os sexos desaparecem após menopausa natural ou cirúrgica (ovariectomia) ou em situações clínicas com compromisso da função dos ovários e da subsequente produção de estrogênios, o que sugere um papel importante dos receptores das hormonas esteroides na diferença entre os sexos [3,5,7,19,20].

A vasodilatação dependente do endotélio das artérias é mais pronunciada no sexo feminino do que no sexo masculino com a mesma idade, contudo isto difere depois da menopausa [3,21]. A saúde vascular da mulher está dependente da função dos ovários e da produção de estrogênios e vice-versa, uma vez que a integridade da vasculatura dos ovários é um fator crítico na produção de esteroides pelos ovários, sendo portanto um determinante da menopausa. As mulheres com a vasculatura comprometida devido a fatores de risco como o tabagismo, dislipidémias ou diabetes mellitus, têm maior probabilidade de sofrer lesões nos ovários com uma cessação precoce da produção de estrogênios [16].

Níveis elevados de colesterol sérico total são um fator de risco significativo para a DAC, tendo os homens tendência para maiores níveis de colesterol associado a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de triglicéridos (TG) e menores níveis de colesterol associado a lipoproteínas de alta densidade (HDL), em comparação com as mulheres em idade pré-menopausa, que têm níveis superiores de colesterol-HDL em aproximadamente 20% [1,8,22]. No entanto, as mulheres têm maior risco de trombose, uma vez que têm maior reatividade das plaquetas a agonistas específicos e maiores níveis de fibrinogénio [1]. Após a menopausa ou ovariectomia, os perfis lipídicos parecem alterar para níveis semelhantes aos dos homens, levando ao aumento do risco cardiovascular [8,22].

Sendo verdadeira a associação inversa entre o colesterol-HDL e a doença coronária, esta resulta primariamente de um efeito protetor dos níveis altos de colesterol-HDL contra o

desenvolvimento da DAC, não estando associados a uma regressão da DAC, justificando assim a reduzida eficácia dos fármacos com este tipo de mecanismo de ação [1].

As mulheres têm assim níveis mais elevados de placas ateroscleróticas fibro-calcificadas, enquanto as placas encontradas nos homens tendem a ser mais complexas, de maiores dimensões e com maior instabilidade – hemorragia intraplaca e presença de núcleo lipídico necrótico. A principal manifestação da aterosclerose ocorre nas mulheres mais jovens, em média, 10 anos mais tarde do que nos homens, com o EAM a ocorrer 20 anos mais tarde. Todavia o risco de DCV aumenta 10 vezes após a menopausa e o risco de AVC isquémico é duplicado durante os 10 anos após a menopausa [10,23].

Embora a incidência das DCV seja claramente sexualmente dimórfica, ainda não há evidências suficientes para que se possa garantir que os estrogénios tenham um papel na diminuição da incidência da síndrome cardiometabólica (conjunto de fatores de risco que levam a DCV) e DCV nas mulheres na pós-menopausa e nos homens [11].

### **3. Aterosclerose**

#### **3.1. Fisiopatologia**

A aterosclerose é uma doença inflamatória crónica [9] que envolve uma proliferação celular excessiva na parede arterial [24], o que contribui para o desenvolvimento de placas ateroscleróticas [6] na camada íntima das artérias de calibre médio a grande [13] que podem eventualmente romper e comprometer o fluxo sanguíneo [5,6].

A doença desenvolve-se principalmente em locais onde o fluxo sanguíneo é turbulento, como as ramificações das artérias [13,24]. A sua progressão é clinicamente silenciosa por vários anos ou décadas e o aparecimento de sintomas já é sinal de doença avançada [6,13].

A angiogénese consiste na formação de novos capilares a partir dos vasos sanguíneos pequenos existentes, normalmente acompanhando a proliferação celular e é estimulada por vários fatores de crescimento, em particular o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Este processo pode ser ativado para reparar lesões de tecidos e poderia ser usado para o tratamento da aterosclerose [13,25,26]. Contudo, o crescimento de novos vasos nas placas ateroscleróticas pode promover o desenvolvimento da doença, uma vez que há síntese de vários fatores angiogénicos que induzem a permeabilidade celular e infiltração de leucócitos, provocando inflamação [27,28].

O retículo endoplasmático (RE) é o local onde são sintetizados os esteroides e os diferentes lípidos, estando associado à aterosclerose e a inibição das suas vias de resposta pode prover proteção cardiovascular. O sistema reticuloendotelial em excesso e a

resultante apoptose das células endoteliais tem um papel fundamental na ruptura precoce das placas ateroscleróticas [29].

A apoptose é um mecanismo de morte celular programada, ao contrário da necrose que consiste na desintegração desorganizada de células danificadas que libertam substâncias que desencadeiam a inflamação [13]. A apoptose excessiva das células endoteliais vasculares aumenta as placas ateroscleróticas e a expressão das proteínas pró-apoptóticas nas células endoteliais aumentam as lesões vasculares [29].

A integridade funcional das células endoteliais é um indicador e um pré-requisito da saúde vascular e contraria o desenvolvimento da aterosclerose. As células endoteliais formam a monocamada celular mais interna da parede arterial, são reguladores importantes da homeostase vascular e estão envolvidas na aterogênese [3].

As células endoteliais controlam o tônus vascular ao libertar, entre outros compostos, o óxido nítrico (NO), produzido pela forma endotelial da sintase do óxido nítrico (eNOS), cuja atividade é modulada pela concentração de cálcio intracelular e modificações pós-translacionais, como a fosforilação. Quando a capacidade de as células endoteliais produzirem NO é atenuada, a consequente disfunção vascular aumenta o risco de DCV, particularmente aterosclerose [21].

Além de produzir NO, o endotélio saudável dá origem a outros mediadores que têm um papel protetor contra as placas de ateroma, nomeadamente a prostaciclina. Assim, acredita-se que os fatores de risco cardiovascular metabólicos atuam ao gerar disfunção endotelial [13,26,29–31], com consequente exposição a lípidos aterogénicos e toxinas, levando ao recrutamento e ativação de células do sistema imunitário, como monócitos, linfócitos T e B, para suprimir os danos através da inflamação [2,24,30,32].

Os fatores aterogénicos como as citocinas inflamatórias (IL-1, TNF- $\alpha$ ), as LDL oxidadas (ox-LDL), hipertensão e hiperglicémia induzem a ativação endotelial levando a uma expressão elevada de várias moléculas de adesão, como a selectina-E, moléculas de adesão intracelular-1 (ICAM-1) e moléculas de adesão celular vascular (VCAM-1) [2,3,12]. Estas moléculas promovem uma interação entre os monócitos e as células do endotélio vascular, permitindo a adesão dos monócitos e a consequente migração para a camada íntima das artérias, onde se diferenciam em macrófagos [2,3,5,7,9,12,16].

As células endoteliais e os monócitos/macrófagos geram radicais livres que oxidam as LDL, que posteriormente são captadas pelos macrófagos juntamente com outros depósitos lipídicos originando células esponjosas [3,7,12,13,33]. A acumulação destas células nas paredes das artérias inicia um processo quimiotático que inclui a libertação de espécies

reativas de oxigênio (ROS), metaloproteinases, mieloperoxidases e interleucina-1 (IL-1), o que origina a primeira lesão visível no desenvolvimento da aterosclerose, as estrias gordas. [7,12,13,16]. Assim, há ativação da inflamação que atrai mais macrófagos para esses locais que provocam danos oxidativos nas LDL depositadas nas estrias gordas, o que promove a formação de mais placas ateroscleróticas [7].

A ativação de plaquetas, macrófagos e células endoteliais libertam citocinas e fatores de crescimento que provocam proliferação do músculo liso e juntamente com a infiltração dos leucócitos provocam o espessamento da parede das artérias e o estreitamento do seu lúmen, induzindo um fluxo sanguíneo turbulento que favorece a ruptura das placas [7,13,33]. As células do músculo liso migram para a íntima e secretam colágeno e outras proteínas de matriz extracelular (ECM) originando a formação de cápsulas fibrosas [12]. Esta resposta fibroproliferativa inflamatória origina placas ateroscleróticas caracterizadas por uma região de núcleo necrótico rico em lipídios revestida por uma cápsula fibrosa para proteger o núcleo de fatores presentes na corrente sanguínea [4,13,16].

As metaloproteinases da matriz (MMPs), que são endopeptidases que controlam o metabolismo da matriz extracelular e a homeostase vascular, são produzidas pelas células inflamatórias nas placas de ateroma e digerem componentes da ECM resultando no colapso do colágeno e destabilização das placas. Quando as lesões se tornam instáveis, este processo inflamatório complexo pode ser convertido num evento clínico agudo ao induzir a erosão ou ruptura das placas, o que conduz a oclusões trombóticas [7,12].

A produção de mediadores inflamatórios prejudica as funções protetoras das células endoteliais, favorecendo a perpetuação da inflamação, vasoconstrição e crescimento e migração das células do músculo liso vascular (VSMC), o que resulta na progressão da doença [2,3].

As lesões ateroscleróticas estão relacionadas diretamente como sendo a causa de oclusões vasculares que resultam no EAM, AVC isquêmico e doença arterial periférica [6,7,33]. O EAM ocorrido devido a oclusão coronária é mais frequentemente causado por ruptura da cápsula fibrosa das placas instáveis, que são caracterizadas por ter uma cápsula fina que quando rompe, permite que o núcleo necrótico entre na circulação sanguínea, resultando em oclusão trombótica do lúmen coronário [16].

### **3.2 Fatores de risco**

A maioria dos eventos cardiovasculares está relacionada com a presença de diversos fatores de risco cardiovascular. Contudo, a aterosclerose e outras DCV são comuns em indivíduos com poucos fatores cardiovasculares associados, principalmente em adultos

jovens e mulheres, nos quais pode ocorrer eventos cardiovasculares mesmo sendo considerados de baixo risco [34]. De acordo com as recomendações de prevenção atuais, os indivíduos que não apresentam fatores de risco não são considerados, normalmente, como alvos de estratégias de prevenção, embora possam ter aterosclerose [35].

A maioria das mortes provocadas por DCV são secundárias a enfartes/tromboses causadas por placas ateroscleróticas desalojadas ou diretamente pela oclusão dos vasos através das placas [2]. A aterosclerose subclínica está subjacente à maioria dos eventos cardiovasculares e a sua deteção pode melhorar a estratificação do risco. FERNÁNDEZ-FRIERA et al. identificaram aterosclerose subclínica em metade da população estudada de meia-idade e sem fatores de risco cardiovascular, com múltiplos vasos afetados [34].

A hipercolesterolemia está associada ao desenvolvimento de aterosclerose, sendo o colesterol-LDL o fator mais modificável. Esta associação mantém-se mesmo quando não existem outros fatores de risco cardiovascular, o que suporta a ideia que só o colesterol pode ser suficiente para desenvolver a doença [16,33,34].

A lipoproteína (a) [Lp(a)] encontrada nas placas ateroscleróticas foi associada à proliferação do músculo liso vascular e a danos endoteliais e foi proposta como sendo um marcador da aterosclerose em algumas populações [10].

A idade é o fator de risco mais significativo para eventos cardiovasculares e está fortemente associada a aterosclerose subclínica, provavelmente devido a uma maior exposição a determinantes de risco como o colesterol-LDL e outros fenómenos associados à idade, como o aumento dos danos dos ácidos nucleicos, apoptose e reduzida capacidade regenerativa [34].

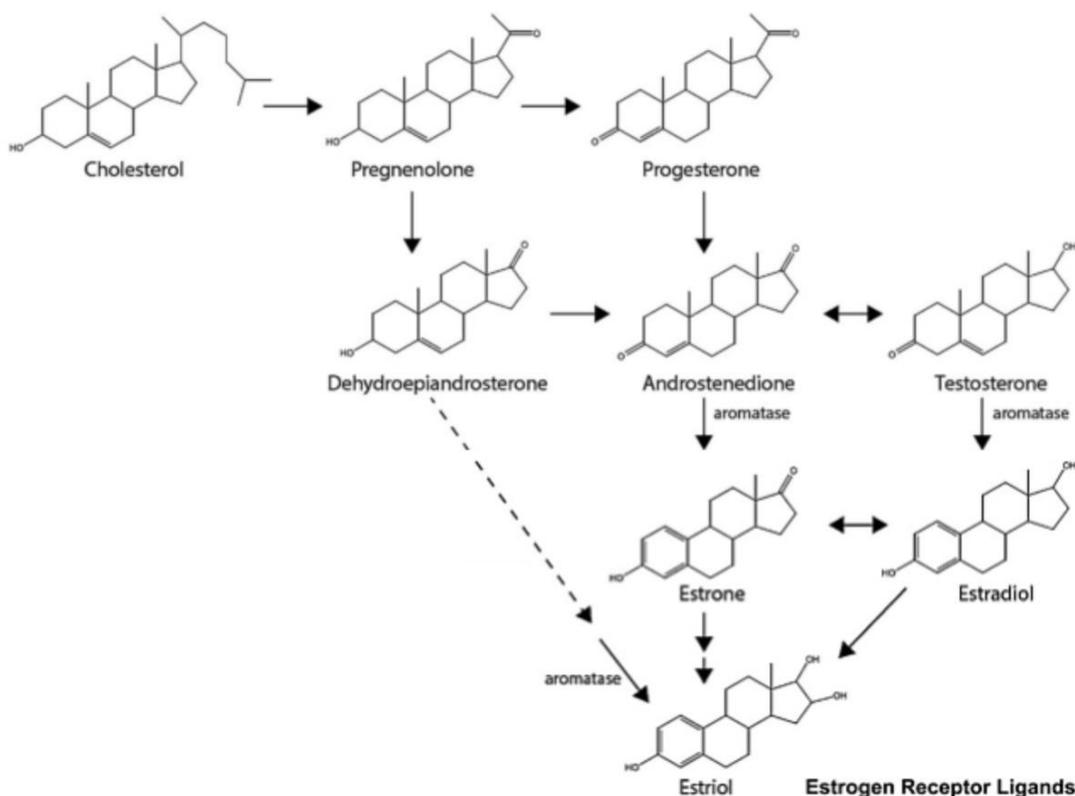
O envelhecimento está associado a inflamação, ao aumento das citocinas inflamatórias, como os TNF e IL-6 e ao aumento do stress oxidativo. No sistema cardiovascular o envelhecimento é acompanhado de rigidez vascular, aumento da fibrose, perda de reservas contráteis, aumento de ROS e disfunção endotelial [36].

#### **4. Hormonas Sexuais**

Apesar de os estrogénios serem considerados hormonas sexuais femininas e os androgénios hormonas sexuais masculinas, ambos participam em vários processos fisiológicos de ambos os sexos [5].

As hormonas sexuais endógenas, como os estrogénios, progestogénios e androgénios, são derivadas do colesterol [5]. Os estrogénios são sintetizados a partir de substâncias androgénicas, a androstenediona e a testosterona, através da ação da enzima citocromo

P450 aromatase [8,11,13]. A androstenediona é metabolizada a estrona e convertida em estradiol e este processo ocorre nos tecidos extragonadais como o cérebro, tecido adiposo, músculo, osso, coração e mama (Fig.1) [8,11].



**Fig.1** – Vias endógenas de biossíntese de estrogénios. Adaptado de HE e NELSON [33].

A testosterona também é sintetizada nas mulheres e pode ser convertida em estradiol através da aromatase localizada na parede vascular, e assim pensa-se que a produção de estrogénios dependente da aromatase é afetada pela danificação da parede vascular, acelerando a progressão da aterosclerose [16].

As hormonas esteroides, especificamente o estradiol e a testosterona, foram correlacionados com a composição das placas carotídeas. Níveis altos de estradiol foram associados a maior probabilidade de núcleos lipídicos nas placas carotídeas em ambos os sexos. Mulheres com níveis de estradiol detetáveis têm 58% maior probabilidade de ter hemorragias intraplaca comparadas com mulheres com baixo estradiol, enquanto níveis de testosterona totais altos são associados a baixas probabilidades. Mulheres na pós-menopausa têm níveis de estradiol e testosterona marcadamente mais baixos do que homens com a mesma idade. Após a cessação da produção de estrogénios pelos ovários, a biossíntese de

estrogénios ocorre nos tecidos periféricos, especialmente no tecido adiposo, através da conversão de androgénios pela aromatase [37].

#### **4.1. Estrogénios**

Os estrogénios são hormonas esteroides envolvidas em múltiplos processos fisiológicos fundamentais para a sobrevivência [12] e são sintetizados pelos ovários e placenta e em pequenas quantidades pelos testículos e córtex adrenal [5,13]. Os humanos têm três tipos principais de estrogénios endógenos: estradiol (E2 ou 17- $\beta$ -estradiol), estrona e estriol [13].

Os recetores de estrogénios (ER) são a explicação para a capacidade dos estrogénios de exercer ações específicas em diferentes tecidos, uma vez que estes recetores medeiam os efeitos biológicos dos estrogénios [12,36]. São conhecidos três tipos de recetores: recetor- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ), recetor- $\beta$  (ER- $\beta$ ) e recetor de estrogénio acoplado às proteínas G (GPER) [5].

O estradiol é o estrogénio principal secretado pelos ovários, é o mais potente e o mais abundante nas mulheres na pré-menopausa [8,11,13]. O estradiol pode circular no sangue e atuar nos tecidos-alvo, atuando como hormona ou atuar diretamente nos tecidos através dos recetores dos estrogénios [11].

O 17- $\alpha$ -estradiol é o isómero natural do estradiol predominante nos humanos e o mais potente nas mulheres antes da menopausa e atua em vários tecido-alvo [12,17]. É encontrado em baixas concentrações no cérebro, glândulas adrenais, ovário, útero, testículos e soro [11].

A estrona (E1) é produzida nos ovários e também em tecidos periféricos como o tecido adiposo, sendo o estrogénio menos potente e o principal nas mulheres na pós-menopausa, dado que os ovários deixam de produzir estradiol [8,11]. O seu efeito estrogénico é fraco e assim, esta deve ser convertida a estradiol para ter um efeito totalmente estrogénico. Esta conversão é feita através de desidrogenases do 17- $\beta$ -hidroxiesteroide nos ovários e noutros tecidos. Há dados que sugerem uma relação negativa entre os níveis de estrona e o risco de DCV, e outros que sugerem o oposto [11].

O estriol (E3) é um metabolito derivado do estradiol e da estrona produzido em vários tipos de células e é o estrogénio mais abundante na urina e com maior prevalência na gravidez sendo produzido pela placenta [8,11]. Há estudos que associam o estriol a um efeito anti-aterosclerótico nas mulheres na pós-menopausa, que pode ser o resultado da capacidade de aumentar a libertação de NO [11].

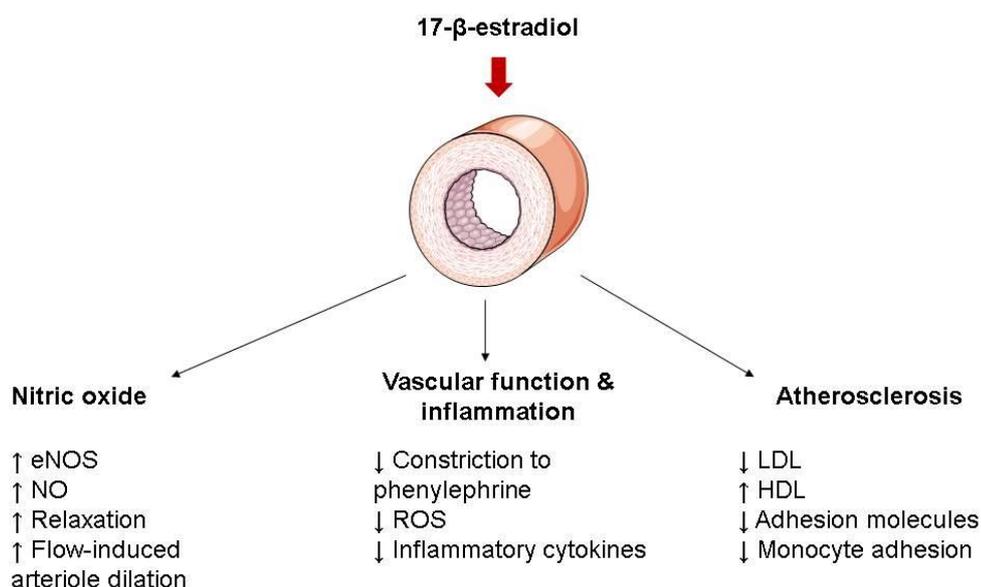
Estas três formas de estrogénios servem como substratos para a produção de vários metabolitos no fígado, através de hidroxilação, oxidação e conjugação (metilação, glucoronidação e sulfonação) [8].

A progesterona é um progestogénio natural secretado pelo corpo lúteo na segunda fase do ciclo menstrual e pela placenta. Além disso, também é secretada pelos testículos e córtex adrenal, embora em pequenas quantidades. Os estrogénios induzem a síntese dos recetores da progesterona no útero, vagina, pituitária anterior e hipotálamo. A progesterona diminui a expressão dos recetores dos estrogénios no sistema reprodutor [13].

## 4.2. Papel protetor dos estrogénios

Os efeitos anti-ateroscleróticos dos estrogénios são evidentes em todas as fases da aterosclerose, ao inibir as lesões precoces potencialmente reversíveis (estrias gordas) de avançar para placas ateroscleróticas [16].

Os estrogénios naturais exercem os seus efeitos vasculares através de recetores nucleares e recetores de membrana [38–40]. O 17- $\beta$ -estradiol tem inúmeros efeitos agudos e crónicos nas funções dos vasos sanguíneos, uma vez que melhora o perfil lipídico, aumenta a expressão e atividade da eNOS, acelera a reparação endotelial ao promover a proliferação e migração endotelial, inibe a proliferação e migração das VSMC, inibe a endotelina-I que é um potente vasoconstritor e fator de crescimento, inibe a resposta inflamatória vascular ao modular funções das células imunitárias, promove a vasodilatação ao ter como alvo as VSMC e as células endoteliais (Fig.2) [16,17,23,39–41]. Os efeitos diretos da 17- $\beta$ -estradiol nas células endoteliais vasculares aparentam ser críticos dado a disfunção endotelial ser o passo inicial da aterosclerose [41].



**Fig.2** – Efeitos vasculares do 17- $\beta$ -estradiol. Adaptado de KNOWLTON e LEE [36].

Os efeitos benéficos dos estrogénios nas fases iniciais do processo aterogénico foram comprovados em diversos estudos usando diferentes sistemas celulares e modelos animais,

contudo os dados sobre os efeitos dos estrogénios no sistema vascular envelhecido são escassos. Alterações como o aumento de moléculas inflamatórias e produção de MMPs ou o decréscimo da biodisponibilidade de NO durante o envelhecimento e a consequente privação de estrogénios conduzem a disfunção endotelial, que é considerada o passo inicial da patogénese da aterosclerose [12,42].

Os estrogénios têm um papel antioxidante e regulam a produção de vários fatores derivados do endotélio, principalmente de NO, modulação do metabolismo energético, incluindo função mitocondrial e regulação da proliferação celular e da apoptose [42].

Todavia também se demonstrou que o 17- $\beta$ -estradiol pode contrair as artérias coronárias em condições experimentais e patológicas. O 17- $\beta$ -estradiol é uma hormona vasoativa multifuncional cujos mecanismos de sinalização são complexos e os seus efeitos dependem da disposição bioquímica das células na parede celular [17].

Os estrogénios podem ter efeitos positivos e negativos no sistema cardiovascular. Numa fase precoce da doença, os estrogénios têm principalmente efeitos benéficos. Contudo, numa fase mais avançada, podem promover inflamação levando a destabilização das placas, aumento da coagulação e trombose [33].

Embora a relação entre as variantes genéticas dos recetores dos estrogénios e o desenvolvimento das DCV nas mulheres ainda não tenha sido estabelecida, há provas de que interações farmacogenómicas dos variantes genéticos influenciam os efeitos da terapêutica hormonal de substituição [42].

#### **4.2.1. Colesterol**

Níveis de colesterol e LDL elevados são fatores de risco para a aterosclerose. O 17- $\beta$ -estradiol interage com a apolipoproteína B (ApoB), que é a proteína estrutural de todas as lipoproteínas aterogénicas, principalmente pela indução da expressão dos genes hepáticos das apoproteínas [16,24,25]. Os estrogénios orais na forma de estrogénios equino-conjugados (CEE) e 17- $\beta$ -estradiol, alteram o perfil das lipoproteínas, devido à absorção de produtos na circulação entero-hepática (efeito de 1<sup>a</sup> passagem), diminuem os níveis de LDL e aumentam os de TG e HDL, em mulheres recentemente na menopausa que não tomam estatinas [11,16,42], tendo assim uma potencial contribuição benéfica na redução do risco da doença aterosclerótica [13].

Os estrogénios têm inúmeros efeitos nos recetores das LDL assim como na função das LDL, dado que diminuem a produção e o tamanho das LDL e aumentam a expressão dos recetores das LDL, além de estimularem a atividade da esterol-27-hidroxilase, uma enzima que reduz a produção de LDL [16].

Os estrogénios endógenos são moduladores importantes da biossíntese e oxidação dos lípidos, diretamente ao afetar a síntese hepática e indiretamente através da redução do stress oxidativo e assim, aumentando a bioatividade do NO [16]. Devido à sua atividade antioxidante provida pelo anel fenólico que resulta na remoção de radicais livres são altamente eficazes a prevenir a oxidação das LDL em colesterol-VLDL [7,17,24]. O 17- $\beta$ -estradiol reduz a formação das LDL minimamente modificadas e a sua acumulação vascular e inibe a peroxidação das LDL que provocam modificações dos componentes da matriz da parede vascular e assim, ajuda a prevenir a aterosclerose [24].

Durante o desenvolvimento da doença aterosclerótica, os estrogénios continuam a afetar a atividade das lipoproteínas e as suas estruturas. Além disso, pensa-se que o 17- $\beta$ -estradiol afeta a função *scavenger* dos recetores, uma vez que inibe a absorção de colesterol-LDL acetilado pelos macrófagos. [16]

Estudos efetuados em animais demonstraram que os estrogénios regulam os níveis hepáticos da apolipoproteína A1 (ApoA1) e estimulam a produção de apolipoproteína E (ApoE). Inclusivamente, os estrogénios estimulam o transportador ABC-A1 (ATP-binding cassette transporter) que está envolvido no transporte reverso do colesterol e estimulam a síntese hepática de HDL, mas inibem a expressão do recetor *scavenger* B1, prolongando o tempo de semivida dos níveis de colesterol-HDL ao interferir na sua remoção [16].

Os estrogénios têm efeitos anti-inflamatórios e de redução do stress oxidativo nos macrófagos, podendo promover um fenótipo anti-aterosclerótico nos macrófagos uma vez que diminuem as ox-LDL e aumentam os níveis de ApoE [6].

#### **4.2.2. Disfunção endotelial**

Os estrogénios são um dos fatores conhecidos que participam nos mecanismos celulares que poderiam iniciar a reparação dos tecidos vasculares danificados, dado que os estrogénios são indutores da angiogénese, levando ao recrescimento celular [25].

A calcificação vascular é uma complicação comum da aterosclerose associada a elevado risco de mortalidade [43]. Estudos *in vitro*, demonstraram que o tratamento com 17- $\beta$ -estradiol consegue aumentar a calcificação das células vasculares [43], contudo, outros estudos demonstraram um papel inibitório do 17- $\beta$ -estradiol na calcificação das VSMC [44,45].

Os estrogénios desempenham uma função importante na miogénese e na regulação dependente da tensão de cisalhamento do diâmetro das arteríolas, afetando a microcirculação, que é fulcral para o desenvolvimento da hipertensão e aterosclerose. Além

disso, têm efeitos não-genómicos independentes da síntese proteica e que ocorrem rapidamente [10].

#### **4.2.3. Inflamação**

Os estrogénios têm impactos favoráveis nos fatores de risco da aterosclerose e portanto na DAC. O processo inflamatório da aterosclerose envolve um enorme grupo de moléculas e fatores, como os fatores de crescimento e citocinas. A presença de recetores de estrogénios nos monócitos dos humanos sugere que os estrogénios possam modular a libertação dessas moléculas [15].

Os estrogénios promovem as atividades pro-inflamatórias das células endoteliais na presença de TNF- $\alpha$ . O estradiol aumenta a expressão endotelial celular do TNF- $\alpha$  induzindo adesão molecular dos leucócitos, facilitando o desenvolvimento de lesões inflamatórias vasculares. Os efeitos dos estrogénios na inflamação vascular são dependentes da idade. Os estrogénios regulam os recetores dos produtos finais de glicosilação, que são um importante fator da progressão das placas ateroscleróticas [12].

A exposição a concentrações fisiológicas de 17- $\beta$ -estradiol reduz a ativação pró-inflamatória das células vasculares endoteliais, reduz a produção de IL-6 e IL-8 e a expressão de VCAM-1 e ICAM-1, que estão envolvidas no recrutamento de leucócitos, prevenindo assim o desenvolvimento de aterosclerose [11].

#### **4.2.4. Óxido Nítrico**

A aterosclerose é caracterizada por uma deficiência em NO e o 17- $\beta$ -estradiol consegue aumentar, via genómica e não-genómica, a biodisponibilidade do NO. Estes efeitos são exercidos através da estimulação da eNOS e consequente libertação do NO, o que promove o relaxamento dos vasos e estimula a recuperação endotelial de danos vasculares, exercendo assim efeitos cardioprotetores [10,11,19,24,33,39,41]. Contudo, estas ações podem ser antagonizadas por determinados progestogénios [42].

A vasodilatação aguda resultante do 17- $\beta$ -estradiol é modulada também pela genisteína, um fitoestrogénio derivado de uma planta, seletivo para o ER- $\beta$  e com efeitos distintos devido à inibição da proteína cinase C. Os fitoestrogénios têm estrutura química e propriedades semelhantes ao estradiol endógeno e inibem a aterogénese através de efeitos benéficos na disfunção endotelial [13,46–48].

#### **4.2.5. Stress oxidativo**

O stress oxidativo é definido como o desarranjo da dinâmica do balanço entre oxidantes e antioxidantes, levando a danos nas estruturas biológicas e na progressão para doença. A maioria dos agentes oxidantes são radicais livres, isto é, partículas altamente reativas e instáveis devido à falta de um ou mais elétrons. Estes agentes podem adquirir estabilidade química ao obter elétrons de ácidos nucleicos, lípidos, proteínas e outras moléculas vizinhas. Estas reações induzem alterações nos alvos finais o que tem consequências inevitáveis na fisiologia das células, o que na maioria dos casos é prejudicial mas também pode ser benéfico para algumas estruturas biológicas [19].

Os estrogénios têm atividade antioxidante através da modulação da expressão de enzimas antioxidantes que controlam os níveis de agentes redutores biológicos e não diretamente através da neutralização química dos reagentes como se pensava anteriormente [19]. Há autores que demonstraram que os estrogénios têm efeitos antioxidantes diretos e indiretos, dado que não atuam apenas como dadores de elétrons, mas também induzem a formação de algumas das enzimas naturais antioxidantes mais potentes, como a superóxido dismutase (SOD) [7].

Os estrogénios diminuem o stress oxidativo ao acelerar o metabolismo das ROS, atuando diretamente como radical livre *scavenger* ou alterando a expressão das enzimas responsáveis pela produção de radicais livres pelo GPER, como a fosfato dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) oxidase vascular, que é uma fonte de ROS [10,17].

Os estrogénios desempenham uma função relevante na degradação de radicais livres de oxigénio através da regulação indireta da expressão de genes antioxidantes e devido à indução da formação de outros antioxidantes enzimáticos protetores, como a SOD, o que diminui a produção de superóxidos e origina um aumento da atividade da eNOS e consequentemente, uma maior disponibilidade de NO, tendo assim efeitos anti-ateroscleróticos [7,10,19,36].

Se os estrogénios atuarem para aumentar as defesas antioxidantes bioquímicas via recetores de hormonas, a progesterona pode atenuar estes efeitos ao provocar alterações contrárias no metabolismo antioxidante das células, já que a progesterona diminui a síntese de SOD induzida pelos estrogénios no músculo liso vascular [7].

#### **4.3. Recetores de Estrogénios**

Os estrogénios ligam-se a recetores nucleares expressos nas células endoteliais vasculares, VSMC, fibroblastos cardíacos e cardiomiócitos, [6,13,14], o que resulta na interação de complexos em locais nucleares com efeitos genómicos, mediando numerosos

efeitos das células e moléculas implicadas na inflamação vascular e no processo aterogénico [10,12,13,49]. A presença de qualquer doença vascular como a aterosclerose afeta as respostas vasculares aos estrogénios e assim, os seus efeitos benéficos podem ser amenizados ou completamente perdidos [50].

Existem dois tipos principais de ER intracelulares, o ER- $\alpha$  e o ER- $\beta$ , que têm locais de ligação estruturalmente diferentes, o que facilita o desenvolvimento de ligandos seletivos específicos de recetor [11,13]. Existem outras isoformas de cada recetor que têm diferentes funções e expressões nos tecidos, com capacidade de iniciar uma rápida sinalização intracelular [3,11,14].

As ações dos estrogénios também são mediadas pela ligação a recetores da membrana, como o GPER [13,40], cuja ativação aparenta ser um potencial alvo terapêutico na doença arterial coronária, embora os mecanismos de sinalização mediados por este recetor ainda não tenham sido completamente elucidados [12].

Estudos sugerem que os mecanismos celulares protetores envolvidos na aterosclerose precoce vs. tardia num processo patológico provocado por lípidos são provavelmente diferentes consoante os recetores de estrogénios envolvidos [16]. As diferentes distribuições nos tecidos dos ER modulam a resposta dos estrogénios e as modificações pós-traducionais podem ser importantes moduladores da função dos recetores [10,36].

As mulheres têm maior expressão de ER nas artérias do que os homens, o que está relacionado com a menor incidência de aterosclerose antes da menopausa, já que a expressão diminui com a idade e a menopausa. A sinalização dos estrogénios via ER- $\beta$  regula o tónus e a pressão arterial, ativa a eNOS nas células embrionárias, reduz a hipertrofia cardíaca e regula a expressão de genes mitocondriais, enquanto o ER- $\alpha$  protege contra danos e remodelação vascular, fibrose e aterosclerose, ativa a eNOS nas células endoteliais adultas, previne a proliferação das VSMC, não tem efeito na hipertrofia cardíaca e os seus efeitos na expressão de genes mitocondriais não são conhecidos [6,12,14,36].

O GPER-1 é um recetor de estrogénios muito abundante no sistema cardiovascular, que interage com outros recetores de hormonas esteroides e é expresso no endotélio humano, VSMCs e diversos tipos de leucócitos, assim como nas artérias e veias intactas de doentes com aterosclerose [3,17]. Além disso, tem atividades anti-inflamatórias e um importante papel na função endotelial vascular dado que induz a vasodilatação, inibe a proliferação do músculo liso vascular e estimula a síntese de NO endotelial [10,17,39]. Estudos efetuados por MEYER et al. demonstraram que os GPER endógenos têm um papel inibitório da

acumulação vascular dos macrófagos e linfócitos T, o que sugere efeitos ateroprotetores envolvidos na inibição da inflamação vascular [39].

Dados de estudos pré-clínicos e clínicos que usaram compostos ativadores não seletivos do GPER, sugerem que a sua ativação pode ter efeitos terapêuticos benéficos na prevenção primária e secundária em doentes em risco de desenvolver DAC ou que já a têm. Os estrogénios endógenos têm efeito vasodilatador contínuo e mais recentemente, os agonistas G-I seletivos do GPER demonstraram a indução rápida de vasodilatação [3,16].

A expressão dos recetores encontra-se diminuída na aterosclerose, o que reduz a ativação da eNOS e aumenta a adesão de monócitos e migração na vasculatura resultante da inflamação, contribuindo para o desenvolvimento da doença [36].

#### **4.3.1. Moduladores seletivos dos recetores de estrogénios (SERMs)**

Os moduladores seletivos dos recetores de estrogénios (SERM) são moléculas não-esteroides com efeitos agonistas e antagonistas seletivos de tecido dos estrogénios, que interagem com os ER no domínio da ligação ao ligando e recrutam diferencialmente proteínas co-ativadoras ou co-repressoras para produzir os seus efeitos fisiológicos na transcrição de genes [18,24,51].

O metabolito do colesterol, 27-hidroxicolesterol (27-HC), é definido como SERM endógeno, com várias atividades, inclusive na aterosclerose, comportando-se como agonista ou antagonista dos ER dependendo do tecido alvo. Como as concentrações do 27-HC são semelhantes ao colesterol, é possível que medie vários efeitos biológicos do colesterol. Os macrófagos expressam a citocromo P450 27A1 (CYP27A1), que é a enzima responsável pela conversão do colesterol em 27-HC e a concentração deste pode ser 20 vezes maior nas placas ateroscleróticas e aumenta com a severidade das lesões e abundância de macrófagos [33,52].

O 27-HC pode ter efeitos ateroprotetores por promover o transporte reverso do colesterol, ao estimular o efluxo do colesterol e inibir a sua síntese através da ativação dos recetores X do fígado e pode contribuir para a estabilização das placas ateroscleróticas, devido aos seus efeitos anti-inflamatórios [33,53].

Apesar dos potenciais efeitos benéficos do 27-HC, há outros estudos que sugerem que este metabolito do colesterol promove a aterosclerose, através de dois mecanismos: a atenuação dos efeitos cardioprotetores dos estrogénios, dado que o 27-HC compete com o estradiol e inibe a produção de NO, e pela promoção da inflamação. A elevação dos níveis de 27-HC resulta em ações dependentes dos recetores dos estrogénios, como o aumento da deposição lipídica e em mais lesões ateroscleróticas e num aumento da infiltração dos

macrófagos, adesão dos macrófagos ao endotélio das células e regulação positiva dos genes pró-inflamatórios (IL-6, MMP-9, TNF $\alpha$ ) [33,53–55].

A CYP27A1 é um importante alvo terapêutico para diminuir a aterosclerose, uma vez que a sua inibição reduz o 27-HC circulante e está associada a menor infiltração dos macrófagos na artéria aorta. Contudo, é necessário estudar melhor os efeitos da inibição desta enzima para avaliar a sua segurança [33,52].

O raloxifeno é um SERM que tem propriedades semelhantes aos estrogênios no sistema cardiovascular, uma vez que induz a vasodilatação aguda dependente do endotélio e ativa diretamente a síntese de NO nas células endoteliais, o que resulta na dilatação dos vasos sanguíneos, reduz as concentrações plasmáticas de colesterol e LDL e melhora a função endotelial. Estudos observacionais demonstraram que o tratamento com tamoxifeno reduz a incidência de doença cardíaca isquêmica e aterosclerose coronária, diminuição do colesterol total plasmático e colesterol-HDL [13,18].

Estes fármacos podem ser usados para reduzir problemas cardiovasculares que surgem após a menopausa, dado que aumentam a síntese e a biodisponibilidade de fatores endoteliais e assim, reduzem o stress oxidativo e marcadores de inflamação, normalizando a disfunção endotelial. Apesar de os SERMs terem demonstrado ser seguros e provocar reduzidos efeitos adversos, podem aumentar o risco de tromboembolismo venoso nas mulheres na pós-menopausa e alterar a coagulação que pode levar a tromboembolismos [16,51,56].

Há estudos que revelaram que a expressão dos GPER mantém a bioatividade de NO nas mulheres na pré e na pós-menopausa em contexto de inflamação vascular e aterosclerose. O tratamento utilizando uma molécula agonista do GPER foi eficaz na redução da aterosclerose após a menopausa e da inflamação vascular. Por outro lado, na presença de um antagonista seletivo do GPER demonstrou-se uma redução de 50% da libertação de NO [3,39]. O G-1, um agonista do GPER no sistema cardiovascular, perfil lipídico, stress oxidativo, aterosclerose e diabetes pode representar uma nova alternativa de tratamento para mulheres após a menopausa, sem risco de cancro da mama e do útero [17,18,39].

## **5. Menopausa**

A menopausa é definida como uma fase de alterações fisiológicas nas mulheres em que ocorre senescência reprodutiva provocada pela cessação da função endócrina dos ovários, o que leva a um declínio drástico da secreção de estrogênios e à perda definitiva do ciclo endometrial e inicia-se após 12 meses de amenorreia desde a última menstruação [19,32].

A combinação do decréscimo dos níveis de 17- $\beta$ -estradiol e o avançar da idade é destrutivo para o organismo da mulher, como se comprova pela epidemiologia de DCV no sexo feminino [6,14,19], dado que a aterosclerose e as suas complicações representam uma das mais comuns causas de morte nas mulheres [2,3,57].

As mulheres saudáveis têm reduzido risco e incidência de DCV comparadas com os homens da mesma idade e essa vantagem desaparece gradualmente após a menopausa, o que é consistente com os efeitos benéficos dos estrogénios endógenos [3,7,19,20,23]. Os efeitos clínicos da deficiência estrogénica *in vivo* são parcialmente atenuados pelos estrogénios residuais, como os que são produzidos pelo tecido adiposo e por androgénios [19].

Níveis reduzidos de estrogénios em mulheres antes da menopausa aumentam o risco de DCV e uma menopausa precoce acelera a aterosclerose e aumenta a mortalidade associada a DCV [11]. Fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose como a hipertensão, a obesidade, a dislipidémia e o tabaco, podem provocar danos isquémicos nos ovários e assim determinar a idade em que ocorre a menopausa [3,24].

Após a menopausa, observam-se várias alterações relacionadas com o sistema cardiovascular, principalmente no aumento da hipertensão e hiperlipidémia, assim como no elevado índice de massa corporal [15]. A dislipidémia nas mulheres na pós-menopausa caracteriza-se por elevados níveis plasmáticos de TG e colesterol-LDL e níveis reduzidos de colesterol-HDL e a perda dos efeitos protetores antioxidantes oferecidos pelos estrogénios aumenta a oxidação das LDL [3,7,15]. As mulheres com mais de 55 anos têm um fluxo sanguíneo menor mediado pela vasodilatação, o que pode ser devido a alterações hormonais na pós-menopausa [10].

O stress oxidativo é considerado um fator patogénico comum para todas as doenças e distúrbios que se definem como “síndrome da menopausa” e a transição para a menopausa diminui o estado antioxidante, devido ao aumento do stress oxidativo e/ou diminuição das enzimas antioxidantes, o que contribui para um maior risco de patologias associadas à menopausa. O aumento do stress oxidativo é crucial para a patogénese de doenças vasculares, incluindo hipertensão e aterosclerose [7,19].

Os danos oxidativos provocados por ROS ou por espécies reativas de nitrogénio em modelos experimentais podem contribuir para a patogénese dos distúrbios observados após a menopausa, estimulados pela relação entre a menopausa e as alterações endócrinas, balanço oxidativo e o bem-estar após a menopausa. Esta relação é provavelmente devida à perda das ações protetoras dos estrogénios durante a idade fértil da mulher [19]. A toxicidade das espécies reativas oxidantes provocam disfunção endotelial, proliferação

muscular e contração e destabilização das placas ateroscleróticas. Os danos das paredes vasculares desencadeiam a perda da biodisponibilidade do NO, que medeia a relaxação dependente do endotélio e aumentam a resposta inflamatória [19,58].

Durante a menopausa, a diminuição dos níveis circulantes de 17- $\beta$ -estradiol promove uma alteração da distribuição da gordura nos tecidos adiposos viscerais e abdominais, estando relacionado com um aumento do tecido adiposo [14,19,38]. Esta redistribuição está relacionada com anormalidades metabólicas como intolerância à glicose, hiperlipidémia e baixo grau de inflamação, potencialmente capazes de alterar o balanço redox sistémico [19].

Durante a menopausa, o papel protetor dos estrogénios em diminuir a ativação das células imunitárias inatas é perdido, permitindo o aumento dos níveis das citocinas inflamatórias, enquanto os níveis de autoanticorpos continuam a aumentar devido aos baixos níveis de estrogénio. Contrariamente, na maioria dos homens os níveis de androgénios que promovem a ativação das células imunitárias inatas e citocinas pró-inflamatórias diminuem após os 50 anos sem aumento dos autoanticorpos como se verifica nas mulheres. Isto pode explicar em parte a razão da aterosclerose e hipertensão aumentar nas mulheres após a menopausa, dado que os estrogénios promovem maiores níveis de anticorpos e autoanticorpos contra as ox-LDL [6].

## **6. Terapêutica Hormonal de Substituição**

A maioria das doenças relacionadas com a idade ocorre, em média, 10 anos após o início da menopausa. Portanto, deve-se recorrer a estratégias de prevenção assim que ocorre a menopausa, sendo a mais fiável a THS, uma vez que as outras medidas de prevenção não são tão eficazes em mulheres mais jovens e saudáveis [59,60].

A THS envolve a administração contínua ou cíclica de baixas doses de um ou mais estrogénios, com ou sem progesterona [13]. A THS é um tratamento muito eficaz de sintomas vasomotores e outros sintomas moderados a severos da menopausa, em mulheres relativamente jovens [56,61,62].

Vários estudos epidemiológicos realizados nas últimas décadas demonstraram que a THS reduz a incidência de DCV, uma vez que confere uma proteção eficaz contra a progressão de doenças arteriais ao corrigir a deficiência em estrogénios, assim como a mortalidade associada em 50% das mulheres na pós-menopausa, dependendo da altura em que é inserida, da formulação e da dosagem [18,42].

Os recetores de estrogénios são cruciais para as ações do 17- $\beta$ -estradiol endógeno ou exógeno administrado na THS na tentativa de restaurar os níveis de 17- $\beta$ -estradiol da pré-

menopausa, para minimizar os efeitos da deficiência dos ovários [12,15,19]. Doentes com mutações em recetores ou proteínas envolvidos no metabolismo lipídico podem não responder o suficiente à terapêutica hormonal [16].

Não existe consenso quanto ao uso dos estrogénios para prevenir ou atenuar as DCV uma vez que os ensaios clínicos efetuados encontraram efeitos preventivos e negativos na DAC com o uso de CEE (uma mistura de pelo menos 10 estrogénios diferentes) em mulheres na menopausa [3,17,19].

## **6.1. Benefícios**

Embora os benefícios reais da THS ainda seja motivo de debate, há estudos que sugerem que esta terapêutica iniciada numa fase precoce da menopausa (entre 5 anos após o início da menopausa), na dose efetiva mais baixa e por curta duração, melhora a qualidade de vida, diminui significativamente a incidência dos sintomas provocados pela redução dos estrogénios e previne fraturas relacionadas com a osteoporose, embora existam outros fármacos preferíveis [13,19,20,60,62,63].

Existem várias *guidelines* que apontam a eficácia e segurança da prescrição de estrogénios em mulheres no início da menopausa que não tenham DCV estabelecida, para aliviar os sintomas associados [12,60,62]. Os estrogénios não orais (via transdérmica ou vaginal) têm o benefício de não aumentar o risco de trombose e são mais apropriados para mulheres com outros fatores de risco, como a obesidade [59].

### **6.1.1. Prevenção de doenças cardiovasculares**

O impacto da THS na prevenção de DCV mantém-se controverso, dado que o uso desta terapêutica é contraindicado para prevenção 2ª de DCV e embora não seja recomendada para prevenção 1ª, observou-se redução do risco de desenvolvimento destas doenças e da mortalidade em mulheres que iniciaram a terapêutica para tratamento dos sintomas associados à menopausa [12,15,20,42,64]. Além disso, verificou-se que terapêutica com estrogénios conjugados diminui o risco de EAM em mulheres com idade entre 50 e 59 anos [65].

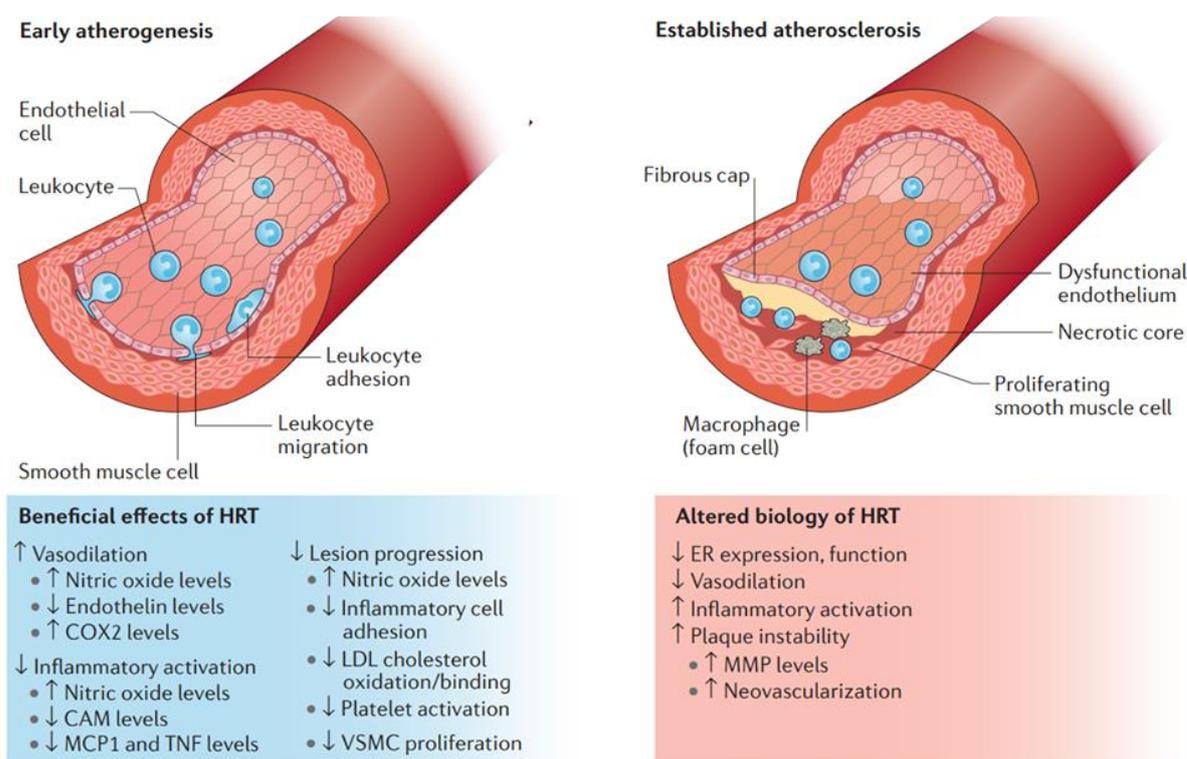
Como não existem estratégias de prevenção primárias válidas disponíveis para mulheres mais jovens (idade inferior a 60 anos) sem ser o controlo do estilo de vida e devido à falta de eficácia de agentes terapêuticos como a aspirina e as estatinas para prevenção primária de DCV nas mulheres, há uma contínua procura por opções seguras e efetivas e deve-se assim ter em consideração a THS como estratégia de prevenção, dado poder reduzir a DAC e outras causas de mortalidade. Além do mais, há estudos adicionais que apontaram a

possibilidade de a THS ter um papel na prevenção primária quando iniciada entre 10 anos após a menopausa e em mulheres com idade inferior a 60 anos [60,66].

### 6.1.2. Aterosclerose

A THS é uma das abordagens usadas para tentar reduzir o aumento do risco e a progressão de aterosclerose após a menopausa e as suas complicações, embora os resultados favoráveis estejam dependentes da altura em que inicia a terapêutica. Todavia, este tratamento tenha sido associado a efeitos adversos, como coágulos sanguíneos e estimulação endometrial, aumentando o risco de hiperplasia e carcinoma [39,67].

A terapêutica com estrogénios tem um papel benéfico durante as primeiras duas fases da lesão endotelial, ou seja na fase inicial da aterogénese, com redução dos sinais pró-inflamatórios e progressão da lesão, mas tem um papel adverso durante a fase de aterosclerose estabelecida, com aumento da inflamação, instabilidade e rutura das placas e trombose (Fig. 3) [60,62,66].



**Fig.3** – Efeitos vasculares da THS nas fases precoce e estabelecida da aterosclerose. Adaptado de MENDELSON e KARAS [68].

O risco aumentado de trombose em mulheres com aterosclerose estabelecida e com níveis altos de 17-β-estradiol, mas não entre mulheres sem aterosclerose, aumenta a

hipótese de que níveis elevados de estrogênios possam ter um papel na prevenção de aterosclerose, mas podem agravar a progressão da doença já estabelecida [2,23,37].

A THS está associada a menores níveis de espessura íntima-média (IMT) da artéria carótida, que é uma medida direta da aterosclerose subclínica que predita os eventos cardiovasculares futuros e assim, indica uma formação mais lenta de placas ateroscleróticas. Contudo, estes efeitos avaliados pela IMT diferem consoante o tempo de iniciação da terapêutica, tendo-se observado uma taxa de progressão significativamente mais baixa em mulheres que iniciaram a THS entre 6 anos após o início da menopausa. Além disso observa-se uma promoção da vasodilatação das artérias coronárias, com restauração da fosforilação da eNOS [2,18,57,59,65].

A terapêutica com estrogênios tem efeitos anti-inflamatórios que incluem redução dos níveis de proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e moléculas de adesão celular vascular-1, diminui a produção de colagénio, reduzindo a progressão de placas ateroscleróticas e promovendo a fibrinólise. Porém, verificou-se um aumento da proteína C reativa, que pode ser devida à utilização de CEE, como resultado de elevadas doses de estrogênios e especialmente devido à via de administração oral pelo efeito de primeira passagem no fígado. Contudo em placas ateroscleróticas mais avançadas, esta terapêutica tem uma capacidade reduzida de influenciar a acumulação e comportamento dos macrófagos, não inibe a hemorragia intraplaquetária, nem a progressão de lesões já estabelecidas e tem efeitos pró-oxidantes [12,15,49,69,70].

A THS reverte as modificações provocadas pela menopausa nas lipoproteínas plasmáticas, diminuindo assim as LDL e aumentando as HDL [16,17,49,71], embora tenha tendência para aumentar os níveis de TG [15].

Estudos efetuados por ESCALANTE et al. demonstraram que a administração de THS durante o período prematuro da pós-menopausa provoca uma diminuição da oxidação lipídica vascular comparada com grupos placebo. Desta forma, prevê-se que a resistência à oxidação lipídica na vasculatura impede a formação das células esponjosas e assim, diminui as placas ateroscleróticas, logo há um possível efeito cardioprotetor [7]. Porém, estes efeitos foram revertidos após descontinuação da terapêutica [19].

## **6.2. Riscos**

A suplementação com estrogênios nas mulheres após a menopausa pode ter mais efeitos deletérios do que benéficos em alguns processos cardiovasculares nas mulheres mais velhas, como o aumento da coagulação sanguínea e eventos adversos coronários no primeiro ano

de tratamento, o que pode ser explicado pelos efeitos pro-inflamatórios dos estrogénios, embora estas ações sejam dependentes de fatores de risco cardiovascular [8,12,15,37,59].

Os riscos e a sua importância causados pelas terapêuticas habituais de prevenção primária da DAC (estatinas e aspirina) são semelhantes aos associados à THS. No entanto, há efeitos mais preocupantes como o tromboembolismo venoso e o risco de cancro que devem ser considerados. Todavia, os riscos associados à THS são predominantemente raros e ainda mais raros quando a terapêutica é iniciada durante ou em menos de 10 anos após o início da menopausa e em mulheres com idade inferior a 60 anos [60,72,73].

A terapêutica hormonal combinada com estrogénios e progestina em mulheres com DAC estabelecida, resulta num aumento do risco de eventos de doença coronária no primeiro ano, mas não tem efeitos no risco destes eventos a longo termo [67]. O risco aumentado de cancro da mama é principalmente associado com a adição de progesterona à terapêutica com estrogénios e está relacionada com a duração do seu uso, uma vez que aumenta quando se usa THS por mais de 5 anos de forma contínua, porém o risco é pequeno e diminui após a interrupção do tratamento [61,63,72,74].

Embora se tenha demonstrado efeitos positivos do 17- $\beta$ -estradiol nas lipoproteínas plasmáticas, há ensaios clínicos mais recentes que indicam efeitos negativos da THS a longo termo na saúde cardiovascular, o que talvez possa ser devido ao facto do 17- $\beta$ -estradiol, apesar de reduzir os níveis de colesterol-LDL, não diminuir o número de partículas das LDL, que ao ficarem com menor tamanho, tornam-se mais aterogénicas. Além do mais, o 17- $\beta$ -estradiol pode promover stress oxidativo nas artérias coronárias ao aumentar a atividade da sintase de NO nas VSMC [17].

Os estrogénios orais podem estar envolvidos no desenvolvimento da composição de placas ateroscleróticas vulneráveis, ao elevar as concentrações de MMP que provocam instabilidade das placas e ao aumento do conteúdo lipídico e hemorragia intraplaca, originando a rutura das cápsulas fibrosas nas placas ateroscleróticas das artérias e possível trombose [23,59].

Há vários fatores que podem ter contribuído para a observação dos efeitos adversos nos ensaios clínicos, como a idade das doentes, DCV pré-existente e/ou risco, altura em que se iniciou a terapêutica, tipo de THS (CEE com progestina), dosagem e propriedades tromboembólicas das hormonas usadas. [18]

### **6.2.1. Risco de AVC**

Os estrogénios e a associação de estrogénios com progesterona por via oral aumentam o risco de tromboembolismo venoso, EAM e AVC isquémico com diminuição de inibidores da

coagulação e aumento dos marcadores de ativação da coagulação, embora estes riscos sejam raros quando a terapêutica é iniciada antes dos 60 anos, com menores doses por um curto período de tempo, principalmente quando se recorre apenas a estrogénios por via transdérmica [42,61,64,74,75].

Segundo CARRASQUILLA et al., quando a THS é iniciada no princípio da menopausa, não se verifica aumento do risco de trombose, independentemente da via de administração, tipo de terapêutica, substância ativa e duração do tratamento [76]. Os resultados dos estudos sugerem que a iniciação da THS entre 0 a 5 anos após o início da menopausa está associada a uma diminuição do risco de trombose e trombose hemorrágica, em comparação com nunca iniciar o tratamento. A iniciação tardia relaciona-se com riscos elevados de trombose quando se usam CEE como única terapêutica [61,76].

### **6.3. "The timing hypothesis"**

A "timing hypothesis" defende que o 17- $\beta$ -estradiol tem efeitos vasculares nefastos nas mulheres com mais idade em contraste com os efeitos neutros ou benéficos em mulheres mais novas. Existem vários fatores que influenciam os efeitos da THS nas DCV, como o tempo que ocorre entre o princípio da menopausa e a iniciação da administração de estrogénios, a idade da mulher que por sua vez está relacionada com a saúde dos tecidos vasculares, e a redução da regulação dos ER [2,12,23,41,65,77].

Após dezenas de estudos observacionais que demonstraram associação inversa entre THS e o risco de DAC e morte associada, foi difícil entender os efeitos adversos ou nulos da terapêutica na DAC que foram reportados por ensaios controlados aleatórios e que conduziram à diminuição da prescrição da terapêutica, mesmo em mulheres com sintomas graves da menopausa. Uma das explicações é que nos estudos observacionais, as mulheres eram mais novas (50 anos) e tinham entrado na menopausa há pouco tempo (entre 2 anos) quando iniciaram a THS, comparadas com as mulheres incluídas nos ensaios aleatórios (idade média de 60 anos, tipicamente 10 anos após a menopausa) [12,59,65].

Estudos observacionais demonstraram que se se iniciar a THS, principalmente à base de estrogénios, no período de 6 anos desde o início da menopausa há um efeito cardioprotetor predominante, com uma diminuição de cerca de 30-50% do risco de doenças coronárias e 30-40% de redução da mortalidade e com proteção contra ateromas, com mínimo risco de reações adversas [3,7,60,65,73,78].

SCHIERBECK et al. efetuaram um ensaio clínico aleatório em que se iniciou a THS numa fase precoce da menopausa, que teve como resultados uma diminuição significativa do risco de morte por insuficiência cardíaca ou EAM. O estudo sugere que nestas condições, não há

aumento de probabilidade de cancro da mama ou outro cancro, nem aumento do risco de AVC, trombose venosa profunda nem embolismo pulmonar. Os resultados contraditórios com outros estudos realizados podem ser explicados pelas diferenças nas hormonas administradas, dado que o 17- $\beta$ -estradiol tem sido reportado como sendo menos trombogénico que os CEE [71].

### **6.3.1. Idade**

A idade da iniciação da THS influencia o risco associado à terapêutica, dado que em idades inferiores a 60 anos o balanço risco-benefício é positivo, sendo os riscos considerados raros [12,56,60]. As mulheres que iniciam a THS nos seus 50s anos e continuam por 5 a 30 anos demonstram um aumento significativo da qualidade de vida de forma extremamente rentável [73].

Observa-se em alguns estudos um aumento proporcional constante da ocorrência de DCV com a idade, causada pela coexistência de fatores de risco como obesidade, hipertensão, distúrbios lipídicos e intolerância à glicose. Todavia, mantém-se a questão se os estrogénios exercem um efeito direto no desenvolvimento das DCV ou se este efeito está relacionado com o seu impacto no perfil lipídico, hipertensão arterial e peso corporal [14].

Além do mais, parece ser uma das maiores razões para a ausência de proteção cardiovascular por administração de estrogénios após a menopausa, pois ainda que as ações favoráveis dos estrogénios no sistema cardiovascular estejam bem documentadas, os estrogénios podem ter efeitos opostos nas artérias ateroscleróticas envelhecidas com função comprometida [12].

A ausência ou a reduzida resposta das artérias ateroscleróticas aos estrogénios em mulheres mais velhas pode ser devida a vários mecanismos, como por exemplo a perda do ER- $\alpha$ , a sua metilação e interferência por níveis elevados de 27-HC com o envelhecimento. Além destes fatores, a senescência celular é acompanhada de alterações na biologia celular e vias moléculas, envolvendo mudanças na expressão de moléculas de sinalização críticas para o desenvolvimento da aterosclerose [12,59,60].

Os efeitos protetores da THS na função vascular dependente do endotélio diminuem com a idade [3]. Quando as artérias coronárias estão afetadas por placas ateroscleróticas os estrogénios orais induzem níveis de MMPs que dissolvem porções da placa, resultando na sua instabilidade que pode resultar em rutura e trombose. Em mulheres mais jovens (idade inferior a 60 anos) com placas coronárias mínimas, mesmo que os níveis de MMPs aumentem com a THS, não existe o substrato na parede arterial responsável pela sua ação prejudicial sobre as placas [60].

#### **6.4. Balanço benefício/risco**

Os benefícios excedem os riscos para a maioria dos sintomas das mulheres na pós-menopausa com idade inferior a 60 anos ou que tenham iniciado a menopausa há menos de 10 anos [56,63]. Uma análise mais recente de ensaios clínicos antigos sugere que a redução do risco cardiovascular só pode ser conseguida após 6 ou mais anos de tratamento [3].

Os estudos efetuados por LOBO et al. demonstraram que os riscos associados à THS são extremamente raros e não são maiores do que os relativos à medicação e suplementação comuns e as queixas somáticas podem ser facilmente lidadas fazendo alterações ao regime terapêutico [59], além do mais, os efeitos adversos associados podem ser controlados com ajuste de dose e a preparação da terapêutica [60].

A alteração da expressão dos recetores na parede vascular após privação de estrogénios assim como devido às lesões ateroscleróticas, pode estar implicada nos efeitos prejudiciais dos estrogénios nas fases mais tardias do processo aterosclerótico [12].

Os fatores genéticos responsáveis pela biossíntese ou função lipídica e os alvos hormonais, como os ER, determinam a eficácia clínica das respostas, o que ilustra a complexidade e dificulta a previsão de qualquer resultado da terapêutica quando há falta de informação genética. Este assunto tem-se tornando ainda mais complicado com os resultados de estudos recentes que demonstraram que doentes com DAC perdem os efeitos ateroprotetores das HDL. Assim sendo, coloca-se a questão se aumentar os níveis de HDL em doentes com DAC deve ser considerado alvo terapêutico [16].

Além do mais, é difícil prever os efeitos benéficos ou prejudiciais da THS no sistema cardiovascular, dados os diversos efeitos dos estrogénios devido à distribuição ubíqua dos recetores de estrogénios nos diferentes órgãos e sistemas, além de que as ações dependem de outros fatores como a idade, fase da DAC, dosagem e tipo de THS [15]. As razões pelas quais não se conseguiu demonstrar os benefícios da THS nos ensaios clínicos podem ser devido às alterações associadas à idade no metabolismo dos estrogénios, ao tipo, forma e dose das hormonas e às alterações da expressão e especificidade de tecido dos ER vasculares [12].

A opção de iniciar a THS é uma decisão individual no que diz respeito à qualidade de vida e prioridades de saúde, além de fatores de risco pessoais, como idade, tempo desde a menopausa e risco de tromboembolismo venoso, AVC, EAM e cancro da mama [63]. Os profissionais de saúde e as pacientes podem recorrer aos resultados dos vários estudos realizados para tomar decisões clínicas no que respeita à prevenção de doenças crónicas

incluindo a osteoporose e morbidade e mortalidade associadas, embora se deva ter em atenção que qualquer estratégia preventiva deve ser personalizada [62,73].

## **6.5. Regime terapêutico**

Embora a THS deva ser primariamente baseada em estrogénios, não há nenhum regime particular definido [60]. Apesar de a eficácia e segurança das terapêuticas hormonais terem sido questionadas por resultados de alguns estudos clínicos aleatórios, a prescrição de ambos os tipos de THS (combinação de estrogénios e progestinas) e terapêutica de substituição de estrogénios (apenas estrogénios) continua a ser muito popular para prevenção e tratamento de sintomas típicos da menopausa [19].

Todavia, as investigações realizadas sobre o impacto da THS nas mulheres após a menopausa providenciaram as bases para duas mudanças importantes na prática clínica: a terapêutica hormonal deve ser usada para alívio de sintomas da menopausa e não para modificar o risco de DCV e que se deve usar a dose mais baixa de hormonas por um menor período de tempo [42].

A duração da terapêutica não é clara, mas há estudos que sugerem que iniciar a terapêutica entre 5-10 anos após o início da menopausa tem efeitos valiosos por vários anos e não é necessário continuar a terapêutica a longo termo, dado que estudos de acompanhamento a longo termo demonstraram que o uso de THS por 3-6 é benéfico. Todavia, o uso da terapêutica deve ser reavaliado anualmente e deve-se ter em conta a função cardiovascular e as variações genéticas na resposta à terapêutica [42,59,60].

Em mulheres com mais idade e passados mais de 10 anos desde o início da menopausa, a THS deve ser usada com maior precaução e apenas se houver sintomas significativos, com um regime terapêutico não oral e de baixa dose. Além do mais, os efeitos benéficos do tratamento com estrogénios exógenos são limitados nestes casos, podendo ser totalmente perdidos caso já existam placas ateroscleróticas [2,60,62].

Deve-se utilizar a dose mais baixa de THS pelo menor período de tempo possível para gerir os sintomas da menopausa. Embora seja recomendado um período de utilização de estrogénios associados a progesterona, inferior a 5 anos, a duração deve ser individualizada. Ambas as vias de administração oral e transdérmica de THS de baixa dosagem têm sido associadas a baixos riscos de tromboembolismo venoso e AVC do que as doses habituais [72].

STUENKEL et al aconselham as mulheres com elevado risco de DCV que iniciem terapêuticas não hormonais para aliviar os sintomas da menopausa e às que têm risco moderado, que iniciem estradiol transdérmico como primeira linha de tratamento associado

ou não a progestogénio, dado que estas preparações não afetam negativamente a pressão sanguínea, TG e metabolismo dos hidratos de carbono [56].

Há estudos clínicos que demonstraram efeitos benéficos e menores efeitos adversos da terapêutica com baixas doses comparáveis com as doses padrão. Contudo, existe pouca informação sobre os riscos/benefícios cardiovasculares utilizando baixas doses de THS e ainda há menos dados quanto aos efeitos nas veias. Todavia, as doses normalmente utilizadas de CEE estão associadas a um risco aumentado de trombose venosa nas mulheres na menopausa. Além do tipo de estrogénios que constituem a mistura CEE, há outros fatores que podem ser a causa do risco cardiovascular conferido por esta terapêutica, como a associação com medroxiprogesterona, via de administração, duração do tratamento e administração de doses de estrogénios suprafisiológicas [79].

A dose e duração da THS devem ser consistentes com os alvos terapêuticos e questões de segurança, pelo que devem ser individualizadas [63]. Contudo, independentemente da duração da terapêutica, a retirada da THS pode eventualmente resultar numa perda óssea e aumento de potenciais fraturas ósseas [59].

#### **6.5.1. Estrogénios equino-conjugados (CEE)**

Os CEE são compostos por conjugados de estrona, equilina (hormona derivada das éguas) e outros compostos com atividade estrogénica e além disso, contêm vestígios de progestinas, androgénios e substâncias com atividade/mecanismos de ação desconhecidos. Assim sendo, esta terapêutica não é considerada bioequivalente aos estrogénios naturais da mulher (17- $\beta$ -estradiol, estrona e estriol) e pode não ter efeitos comparáveis, apesar de ser a mais prescrita para as mulheres na menopausa [36,79].

Há ensaios clínicos que demonstraram que o tratamento na pós-menopausa com CEE e progestinas sintéticas afetam negativamente a saúde cardiovascular do sexo feminino. Embora estes estudos tenham sido criticados por terem incluído mulheres que iniciaram a THS em idade avançada e independentemente de terem fatores de risco ou mesmo que já tivessem doença arterial coronária estabelecida, o uso de misturas hormonais derivadas de animais que não incluem 17- $\beta$ -estradiol de origem humana, não são recomendados para prevenção primária ou tratamento de DCV [3].

#### **6.5.2. Progestogénios**

A progesterona é uma hormona vasoativa que tem efeitos vasodilatadores e vasoconstritores, dependendo da localização do vaso e do nível de exposição. Esta hormona apresenta efeitos anti-aterogénicos como os estrogénios, ao diminuir o colesterol-LDL e

aumentar o colesterol-HDL. Contudo, pode antagonizar os efeitos antioxidantes dos estrogénios e aumentar a atividade da NADPH oxidase e a produção de ROS. Alguns estudos experimentais também demonstraram efeitos benéficos nos vasos sanguíneos, cuja ação tem sido associada a uma interação dependente do tipo de recetor ao qual a progesterona se liga [7,18,42,80].

A THS para o tratamento dos sintomas da menopausa deve ser baseada apenas em estrogénios e a associação de progesterona deve ser minimizada e somente usada para proteção endometrial do útero e não em mulheres hysterectomizadas, uma vez que há evidências de um aumento do efeito no cancro da mama e efeitos atenuantes nas artérias coronárias [56,59,61,62,72]. O tipo de progesterona usado é importante, dado a progesterona natural parecer ter efeitos mais benéficos do que o acetato de medroxiprogesterona. [71].

### **6.5.3. Sistemas orais vs. transdérmicos**

A administração oral de estrogénios resulta em elevados níveis hepáticos desta hormona devido ao efeito de primeira passagem, o que pode estimular a síntese de proteínas e parece estar associado a um aumento do risco de AVC, uma vez que alteram a expressão dos genes hepáticos envolvidos na coagulação, devido às suas propriedades nucleares [36].

Contrariamente, a via transdérmica providencia uma libertação mais controlada, resultando em concentrações sanguíneas mais constantes de estrogénios, observando-se um risco de DCV significativamente menor. Embora não existam dados suficientes, os eventos tromboembólicos parecem estar relacionados com a administração de doses normais a altas de estrogénios transdérmicos, mas não a doses baixas [66].

O risco de tromboembolismo venoso e AVC isquémico aumenta com a THS por via oral, mas o risco absoluto é raro antes dos 60 anos. Mulheres mais jovens (idade inferior a 60 anos) com certos riscos cardiovasculares são sugeridas a receber estrogénios não orais, dado que os estrogénios transdérmicos evitam o efeito de primeira passagem no fígado e devem reduzir as complicações associadas, não aumentam os níveis de MMPs e não acarretam risco de trombose venosa [36,60,63].

Os estrogénios orais são mais eficazes em diminuir os níveis e o tamanho das LDL e estão associados a um aumento da clearance das partículas pequenas de LDL e outras partículas de LDL pós-prandiais. Além disso, diminuem a Lp(a) e aumentam as HDL, enquanto os transdérmicos não afetam nenhum destes parâmetros. Quanto aos TG, são aumentados pela via oral mas diminuídos pela transdérmica. Ambas as vias parecem ter efeitos igualmente

benéficos na via da sintase de NO, função endotelial e redução da enzima de conversão da angiotensina-I [66].

## **7. Conclusões**

A incidência de DAC aumenta nas mulheres quando os níveis de estrogénio diminuem com a idade e após a menopausa, o que sugere que os estrogénios têm um papel protetor no sistema cardiovascular [3,6–8,12,19]. Os mecanismos pelos quais existe diferente prevalência, manifestações clínicas e resultados de tratamentos para a aterosclerose continuam por descobrir [1,11].

O uso de hormonas sexuais no sistema cardiovascular é um assunto clínico complexo que requer uma ponderação dos riscos/benefícios e além do mais, a interpretação dos estudos efetuados é difícil dado os diferentes fatores associados. Embora a redução da mortalidade seja incontestável quando a terapêutica é iniciada em mulheres mais jovens após a menopausa e que continuam a terapêutica a longo termo, há múltiplos fatores ainda a ser melhor estudados que podem ter impacto nos benefícios potenciais ou contraindicações da THS, relativamente à altura em que é inserida consoante o início da menopausa, o que pode afetar a janela terapêutica, e à dosagem e via de administração (oral, via implantes ou aplicados diretamente na pele) [1,6,11,15,73].

Apesar de não existir um regime terapêutico ideal para cada mulher, os profissionais de saúde devem individualizar a terapêutica baseada em fatores clínicos, no genótipo e nas preferências das pacientes assim como pesquisar risco de cancro da mama e DCV antes de iniciar a THS e assim recomendar a terapêutica mais adequada de acordo com os riscos/benefícios [18,56,60,62,73]. É importante realçar que se deve controlar os fatores de risco cardiovascular assim como o estilo de vida, já que os estrogénios sozinhos não conseguem contrariar todo o risco cardiovascular após a menopausa [15].

A melhor compreensão das respostas das hormonas sexuais no sistema cardiovascular pode fornecer novas informações e contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos que podem ser usados na THS para aumentar as ações benéficas das hormonas nos vários sistemas do corpo humano. A identificação de novas alternativas terapêuticas pode ajudar a aliviar os sintomas da menopausa de curto termo e contribuir para a proteção do sistema cardiovascular [18,60].

A THS tem uma série de vantagens quando utilizada apropriadamente, dado que se verifica uma clara redução da perda óssea, fraturas ósseas, incidência de diabetes mellitus, DAC e outras causas de mortalidade, com riscos raros e não significativos estatisticamente,

particularmente quando iniciada em mulheres com idade inferior a 60 anos e/ou num período inferior a 10 anos desde o início da menopausa [59]. Assim, é muito importante que os profissionais de saúde tenham a noção de que a prevenção de doenças após a menopausa deve ser o principal objetivo e considerar a THS, especialmente baseada em estrogénios, como estratégia de prevenção.

## 8. Bibliografia

1. ROBINET, P., MILEWICZ, D. M., CASSIS, L. A., LEEPER, N. J., LU, H. S., SMITH, J. D. - **Consideration of Sex Differences in Design and Reporting of Experimental Arterial Pathology Studies—Statement From ATVB Council.** *Arterioscl. Throm. Vas.*, 38 (2018) 292–303
2. NAFTOLIN, F., MEHR, H. AND FADIEL, A. - **Sex Steroids Block the Initiation of Atherosclerosis.** *Reprod. Sci.*, 23 (2016) 1620–1625
3. MEYER, M. R., BARTON, M. - **Estrogens and Coronary Artery Disease: New Clinical Perspectives.** *Adv. Pharmacol.*, 77 (2016) 307-360.
4. BENTZON, J. F., OTSUKA, F., VIRMANI, R., FALK, E. - **Mechanisms of plaque formation and rupture.** *Circ. Res.*, 114 (2014) 1852–1866
5. BOESE, A. C., KIM, S. C., YIN, K.-J., LEE, J.-P., HAMBLIN, M. H. - **Sex Differences in Vascular Physiology and Pathophysiology: Estrogen and Androgen Signaling in Health and Disease.** *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, 313 (2017) H524-H545
6. FAIRWEATHER, D. - **Sex Differences in Inflammation During Atherosclerosis.** *Clin. Med. Insights Cardiol.*, 8 (2014) 49–59
7. ESCALANTE, C. G., MORA, S. Q., BOLAÑOS, L. N. - **Hormone replacement therapy reduces lipid oxidation directly at the arterial wall: A possible link to estrogens' cardioprotective effect through atherosclerosis prevention.** *J. Midlife. Health*, 8 (2017) 11-16
8. CROSS, T.-W. L., KASAHARA, K., REY, F. E. - **Sexual dimorphism of cardiometabolic dysfunction: Gut microbiome in the play?** *Mol. Metab.*, 15 (2018) 70-81
9. ANNIBALINI, G., AGOSTINI, D., CALCABRINI, C., MARTINELLI, C., COLOMBO, E., GUESCINI, M., TIBOLLO, P., STOCCHI, V., SESTILI, P. - **Effects of sex hormones on inflammatory response in male and female vascular endothelial cells.** *J. Endocrinol. Invest.*, 37 (2014) 861–869
10. MATHUR, P., OSTADAL, B., ROMEO, F., MEHTA, J. L. - **Gender-related differences in atherosclerosis.** *Cardiovasc. Drug. Ther.*, 29 (2015) 319–327
11. MORSELLI, E., SANTOS, R. S., CRIOLLO, A., NELSON, M. D., PALMER, B. F., CLEGG, D. J. - **The effects of oestrogens and their receptors on cardiometabolic health.** *Nat. Rev. Endocrinol.*, 13 (2017) 352–364

12. KASSI, E., SPILIOTI, E., NASIRI-ANSARI, N., ADAMOPOULOS, C., MOUITSATSOU, P., PAPAPANAGIOTOU, A., SIASOS, G., TOUSOULIS, D., PAPAVALASSIOU, A. G. - **Vascular Inflammation and Atherosclerosis: The Role of Estrogen Receptors.** *Curr. Med. Chem.*, 22 (2015) 1-15
13. RANG, H.P., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. **Rang & Dale's Pharmacology.** 8th Edition. London: Elsevier Churchill Livingstone, 2016. ISBN- 13 978-0-7020-5363-4
14. WALECKA, I. - **Estrogen Receptor Alpha Polymorphisms, Estradiol Level, and Occurrence of Atherosclerosis Risk Factors in Healthy Postmenopausal Women.** *Med. Sci. Monitor.*, 21 (2015) 970–979
15. BOUKHRIS, M., TOMASELLO, S. D., MARZÀ, F., BREGANTE, S., PLUCHINOTTA, F. R., GALASSI, A. R. - **Coronary heart disease in postmenopausal women with type II diabetes mellitus and the impact of estrogen replacement therapy: A narrative review.** *Int. J. Endocrinol.*, 2014 (2014) 1-8
16. BARTON, M. - **Cholesterol and atherosclerosis: Modulation by oestrogen.** *Curr. Opin. Lipidol.*, 24., 3 (2013) 214–220
17. HAN, G., WHITE, R. E. - **G-protein-coupled estrogen receptor as a new therapeutic target for treating coronary artery disease.** *World J. Cardiol.*, 6 (2014) 367–375
18. DOS SANTOS, R. L., DA SILVA, F. B., RIBEIRO, R. F., STEFANON, I. - **Sex hormones in the cardiovascular system.** *Horm. Mol. Biol. Clin. Invest.*, 18 (2014) 89–103
19. CERVELLATI, C., BERGAMINI, C. M. - **Oxidative damage and the pathogenesis of menopause related disturbances and diseases.** *Clin. Chem. Lab. Med.* 54, (2016) 739–753
20. GARCIA, M., MULVAGH, S. L., MERZ, C. N. B., BURING, J. E., MANSON, J. A. E. - **Cardiovascular disease in women: Clinical perspectives.** *Circ. Res.*, 118 (2016) 1273–1293
21. VANHOUTTE, P. M., ZHAO, Y., XU, A., LEUNG, S. W. S. - **Thirty years of saying NO: Sources, Fate, Actions, and Misfortunes of the Endothelium-Derived Vasodilator Mediator.** *Circ. Res.*, 119 (2016) 375–396
22. ARNOLD, A. P., CASSIS, L. A., EGHBALI, M., REUE, K., SANDBERG, K. - **Sex hormones and sex chromosomes cause sex differences in the development of cardiovascular diseases.** *Arterioscl. Throm. Vas.*, 37 (2017) 746–756

23. GLISIC, M., MUJAJ, B., RUEDA-OCHOA, O. L., ASLLANAJ, E., LAVEN, J. S. E., KAVOUSI, M., IKRAM, M. K., VERNOOIJ, M. W., IKRAM, M. A., FRANCO, O. H., BOS, D., MUKA, T. - **Associations of Endogenous Estradiol and Testosterone Levels with Plaque Composition and Risk of Stroke in Subjects with Carotid Atherosclerosis.** *Circ. Res.*, 122 (2018) 97–105
24. RESANOVIC, I., RIZZO, M., BJELOGRLIC, P., PEROVIC, M., SAVIC, K., PATTI, A. M., ISENOVIC, R. E. - **Anti-atherogenic effects of 17- $\beta$ -Estradiol.** *Horm. Metab. Res.*, 45 (2013) 701–708
25. BARNABAS, O., WANG, H., GAO, X. M. - **Role of estrogen in angiogenesis in cardiovascular diseases.** *J. Geriatr. Cardiol.*, 10 (2013) 377–382
26. KONUKOGLU, D., UZUN, H., - **Endothelial dysfunction and hypertension.** *Adv. Exp. Med. Biol.*, 956 (2017) 511–540
27. PERROTTA, P., VESELI, B. E., VAN DER VEKEN, B., ROTH, L., MARTINET, W., DE MEYER, G. R. Y. - **Pharmacological strategies to inhibit intra-plaque angiogenesis in atherosclerosis.** *Vasc. Pharmacol.* (2018) doi:10.1016/j.vph.2018.06.014
28. SEDDING, D. G., BOYLE, E. C., DEMANDT, J. A. F., SLUIMER, J. C., DUTZMANN, J., HAVERICH, A., BAUERSACHS, J. - **Vasa Vasorum Angiogenesis: Key Player in the Initiation and Progression of Atherosclerosis and Potential Target for the Treatment of Cardiovascular Disease.** *Front. Immunol.*, 9 (2018) 1-14
29. WANG, Y., YANG, X., LI, X.-D., QI, Y.-F., HE, X.-J., WANG, Y.-J. - **Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress Apoptosis by Estrogen Protects Human Umbilical Vein Endothelial Cells Through the PI3 Kinase-Akt Signaling Pathway.** *J. Cell. Biochem.*, 118 (2017) 4568–4574
30. WANG, D., WANG, Z., ZHANG, L., WANG, Y. - **Roles of Cells from the Arterial Vessel Wall in Atherosclerosis.** *Mediat. Inflamm.*, 2017 (2017) 1-9
31. GRASSI, D., DESIDERI, G., FERRI, C. - **Cardiovascular risk and endothelial dysfunction: the preferential route for atherosclerosis.** *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 12 (2011) 1343–53
32. FIGUEROA-VEGA, N., MORENO-FRÍAS, C., MALACARA, J. M. - **Alterations in adhesion molecules, pro-inflammatory cytokines and cell-derived microparticles contribute to intima-media thickness and symptoms in postmenopausal women.** *Plos One.*, 10 (2015) 1–21
33. HE, S., NELSON, E. R. - **27-Hydroxycholesterol, an endogenous selective estrogen receptor modulator.** *Maturitas*, 104 (2017) 29–35

34. FERNÁNDEZ-FRIERA, L., FUSTER, V., LÓPEZ-MELGAR, B., OLIVA, B., GARCÍA-RUIZ, J. M., MENDIGUREN, J., BUENO, H., POCOOCK, S., IBÁÑEZ, B., FERNÁNDEZ-ORTIZ, A., SANZ, J. - **Normal LDL-Cholesterol Levels Are Associated With Subclinical Atherosclerosis in the Absence of Risk Factors.** *J. Am. Coll. Cardiol.*, 70 (2017) 2979–2991
35. PIEPOLI, M. F., HOES, A. W., AGEWALL, S., ALBUS, C., BROTONS, C., CATAPANO, A. L., COONEY, M-T., CORRÁ, U., COSYNS, B., DEATON, C., GRAHAM, I., HALL, M. S., HOBBS, F. D. R., LOCHEN, M-L., LOLLGEN, H., MARQUES-VIDAL, P., PERK, J., PRESCOTT, E., REDON, J., RICHTER, D. J., SATTAR, N., SMULDERS, Y., TIBERI, M. VAN DER WORP, H. B., VAN DIS, I, VESCHUREN, W. M. M. - **2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice.** *Eur. Heart J.*, 37 (2016) 2315–2381
36. KNOWLTON, A. A., LEE, A. R. - **Estrogen and the cardiovascular system.** *Pharmacol. Therapeut.*, 135 (2012) 54–70
37. REXRODE, K.- **Sex Differences in Sex Hormones, Carotid Atherosclerosis, and Stroke.** *Circ. Res.*, 122 (2018) 17–19
38. CHAMBLISS, K. L., BARRERA, J., UMETANI, M., UMETANI, J., KIM, S. H., MADAK-ERDOGAN, Z., HUANG, L., KATZENELLENBOGEN, B. S., KATZENELLENBOGEN, . A., MINEO, C., SHAUL, P. W. - **Nonnuclear estrogen receptor activation improves hepatic steatosis in female mice.** *Endocrinology*, 157 (2016) 3731–3741
39. MEYER, M. R., FREDETTE, N. C., HOWARD, T. A., HU, C., RAMESH, C., DANIEL, C., AMANN, K., ARTERBURN, J. B., BARTON, M., PROSSNITZ, E. R. - **G protein-coupled estrogen receptor protects from atherosclerosis.** *Sci. Rep.*, 4 (2014) 1-8
40. PRABHUSHANKAR, R., KRUEGER, C., MANRIQUE, C. - **Membrane estrogen receptors: Their role in blood pressure regulation and cardiovascular disease.** *Curr. Hypertens. Rep.*, 16 (2014)
41. LI, P., WEI, J., LI, X., CHENG, Y., CHEN, W., CUI, Y., SIMONCINI, T., GU, Z., YANG, J., FU, X. - **17- $\beta$ -estradiol enhances vascular endothelial Ets-1/ MIR-126-3p expression: The possible mechanism for attenuation of atherosclerosis.** *J. Clin. Endocr. Metab.*, 102 (2017) 594–603
42. ALHURANI, R. E., CHAHAL, C. A. A., AHMED, A. T., MOHAMED, E. A., MILLER, V. M. - **Sex hormone therapy and progression of cardiovascular disease in menopausal women.** *Clin. Sci.*, 130 (2016) 1065–1074

43. MCROBB, L. S., MCGRATH, K. C. Y., TSATRALIS, T., LIONG, E. C., TAN, J. T. M., HUGHES, G., HANDELSMAN, D. J., HEATHER, A. K. - **Estrogen Receptor Control of Atherosclerotic Calcification and Smooth Muscle Cell Osteogenic Differentiation.** *Arterioscl. Throm. Vas.*, 37 (2017) 1127–1137
44. RZEWUSKA-LECH, E., JAYACHANDRAN, M., FITZPATRICK, L. A., MILLER, V. M. - **Differential effects of 17-estradiol and raloxifene on VSMC phenotype and expression of osteoblast-associated proteins.** *Am. J. Physiol-Endoc. M.*, 289 (2005) E105–E112
45. OSAKO, M. K., NAKAGAMI, H., KOIBUCHI, N., SHIMIZU, H., NAKAGAMI, F., KORIYAMA, H., SHIMAMURA, M., MIYAKE, T., RAKUGI, H., MORISHITA, R. - **Estrogen inhibits vascular calcification via vascular RANKL system: Common mechanism of osteoporosis and vascular calcification.** *Circ. Res.*, 107 (2010) 466–475
46. MYASOEDOVA, V. A., KIRICHENKO, T. V., MELNICHENKO, A. A., OREKHOVA, V. A., RAVANI, A., POGGIO, P., SOBENIN, I. A., BOBRY SHEV, Y. V., OREKHOV, A. N. **Anti-atherosclerotic effects of a phytoestrogen-rich herbal preparation in postmenopausal women.** *Int. J. Mol. Sci.*, 17 (2016) 1–14
47. MESSINA, M. - **Soy foods, isoflavones, and the health of postmenopausal women.** *Am. J. Clin. Nutr.*, 100 (2014) 423S-430S
48. KIRICHENKO, T. V., MYASOEDOVA, V. A., OREKHOVA, V. A., RAVANI, A. L., NIKITINA, N. A., GRECHKO, A. V., SOBENIN, I. A., OREKHOV, A. N. - **Phytoestrogen-Rich Natural Preparation for Treatment of Climacteric Syndrome and Atherosclerosis Prevention in Perimenopausal Women.** *Phyther., Res.* 31 (2017) 1209–1214
49. REGISTER, T. C., APPT, S. E., CLARKSON, T. B. - **Atherosclerosis and vascular biologic responses to estrogens: hystologic, immunohistochemical, biochemical, and molecular methods.** In: Eyster K.M. (eds) *Estrogen Receptors. Methods in Molecular Biology.* Humana Press, New York, NY., 1366 (2016) 517–532
50. BARTON, M., MEYER, M. R., PROSSNITZ, E. R. - **Alike but not the same: Anatomic heterogeneity of estrogen receptor-mediated vasodilation.** *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 62 (2013) 22–25
51. LAMAS, A. Z., CALIMAN, I. F., DALPIAZ, P. L. M., DE MELO, A. F., ABREU, G. R., LEMOS, E. M., GOUVEA, S. A., BISSOLI, N. S. - **Comparative effects of estrogen, raloxifene and tamoxifen on endothelial dysfunction, inflammatory markers and oxidative stress in ovariectomized rats.** *Life Sci.*, 124 (2015) 101–109

52. LEE, W. R., ISHIKAWA, T., UMETANI, M. - **The interaction between metabolism, cancer and cardiovascular disease, connected by 27-hydroxycholesterol.** *Clin. Lipidol.*, 9 (2014) 617–624
53. UMETANI, M., GHOSH, P., ISHIKAWA, T., UMETANI, J., AHMED, M., MINEO, C., SHAUL, P. W. - **The cholesterol metabolite 27-hydroxycholesterol promotes atherosclerosis via proinflammatory processes mediated by estrogen receptor alpha.** *Cell Metab.*, 20 (2014) 172–182
54. GARGIULO, S., GAMBA, P., TESTA, G., ROSSIN, D., BIASI, F., POLI, G., LEONARDUZZI, G. - **Relation between TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway activation by 27-hydroxycholesterol and 4-hydroxynonenal, and atherosclerotic plaque instability.** *Aging Cell*, 14 (2015) 569–581
55. VIRGINIO, V. W. M., NUNES, V. S., MOURA, F. A., MENEZES, F. H., ANDREOLLO, N. A., ROGERIO, F., SCHERRER, D. Z., QUINTÃO, E. C. R., NAKANDAKARE, E., PETRUCCI, O., NADRUZ, W., DE FARIA, E. C., SPOSITO, A. C. - **Arterial tissue and plasma concentration of enzymatic-driven oxysterols are associated with severe peripheral atherosclerotic disease and systemic inflammatory activity.** *Free Radical Res.*, 49 (2015) 199–203
56. STUENKEL, C. A., DAVIS, S. R., GOMPEL, A., LUMSDEN, M. A., MURAD, M. H., PINKERTON, J. A. V., SANTEN, R. J. - **Treatment of symptoms of the menopause: An endocrine society clinical practice guideline.** *J. Clin. Endocr. Metab.*, 100 (2015) 3975–4011
57. HARMAN, S. M., BLACK, D. M., NAFTOLIN, F., BRINTON, E. A., BUDOFF, M. J., CEDARS, M. I., HOPKINS, P. N., LOBO, R. A., MANSON, J. E., MERRIAM, G. R., MILLER, V. M., NEAL-PERRY, G., SANTORO, N., TAYLOR, H. S., VITTINGHOFF, E., YAN, M., HODIS, H. N. - **Arterial imaging outcomes and cardiovascular risk factors in recently menopausal women: A randomized trial.** *Ann. Intern. Med.*, 161 (2014) 249–260
58. BUPP, M. R. G. - **Sex, the aging immune system, and chronic disease.** *Cell. Immunol.*, 294 (2015) 102–110
59. LOBO, R. A., PICKAR, J. H., STEVENSON, J. C., MACK, W. J., HODIS, H. N. - **Back to the future: Hormone replacement therapy as part of a prevention strategy for women at the onset of menopause.** *Atherosclerosis*, 254 (2016) 282–290
60. LOBO, R. A. - **Hormone-replacement therapy: Current thinking.** *Nat. Rev. Endocrinol.*, 13 (2017) 220–231

61. GURNEY, E. P., NACHTIGALL, M. J., NACHTIGALL, L. E., NAFTOLIN, F. - **The Women's Health Initiative trial and related studies: 10 years later: A clinician's view.** *J. Steroid Biochem.*, 142 (2014) 4–11
62. KAUNITZ, A. M., MANSON, J. E. - **Management of Menopausal Symptoms.** *Obstet. Gynecol.*, 126 (2015) 859–76
63. DE VILLIERS, T. J., GASS, M. L. S., HAINES, C. J., HALL, J. E., LOBO, R. A., PIERROZ, D. D., REES, M. - **Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy.** *Climacteric*, 16 (2013) 203–204
64. WILLIAMS, M. S., CUSHMAN, M., OUYANG, P., HECKBERT, S. R., KALYANI, R. R., VAIDYA, D. - **Association of Serum Sex Hormones with Hemostatic Factors in Women On and Off Hormone Therapy: The Multiethnic Study of Atherosclerosis.** *J. Women's Heal.*, 25 (2016) 166–172
65. HODIS, H. N., MACK, W. J., HENDERSON, V. W., SHOUPE, D., BUDOFF, M. J., HWANG-LEVINE, J., LI, Y., FENG, M., DUSTIN, L., KONO, N., STANCZYK, F. Z., SELZER, R. H. AND AZEN, S. P. **Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol.** *N. Engl. J. Med.*, 374 (2016) 1221–1231
66. HALE, G. E. AND SHUFELT, C. L. **Hormone therapy in menopause: An update on cardiovascular disease considerations.** *Trends Cardiovasc. Med.*, 25 (2015) 540–549
67. KEANEY, J. F. AND SOLOMON, C. G. **Postmenopausal Hormone Therapy and Atherosclerosis — Time Is of the Essence.** *New Engl. J. Med.*, 374 (2016) 1279–1280
68. MENDELSON, M. E., KARAS, R. H. - **Molecular and Cellular Basis of Cardiovascular Gender Differences.** *Science*, 308 (2005) 1583–1587
69. ROSENFELD, M. E., KAUSER, K., MARTIN-MCNULTY, B., POLINSKY, P., SCHWARTZ, S. M., RUBANYI, G. M. - **Estrogen inhibits the initiation of fatty streaks throughout the vasculature but does not inhibit intra-plaque hemorrhage and the progression of established lesions in apolipoprotein E deficient mice.** *Atherosclerosis*, 164 (2002) 251–259
70. DA SILVA, L. H. A., PANAZZOLO, D. G., MARQUES, M. F., SOUZA, M. G. C., PAREDES, B. D., NOGUEIRA NETO, J. F., LEÃO, L. M. C. S. M., MORANDI, V., BOUSKELA, E., KRAEMER-AGUIAR, L. G. - **Low-dose estradiol and endothelial and inflammatory biomarkers in menopausal overweight/obese women.** *Climacteric*, 19 (2016) 337–343
71. SCHIERBECK, L. L., REJNMARK, L., TOFTENG, C. L., STILGREN, L., EIKEN, P., MOSEKILDE, L., KØBER, L., JENSEN, J. E. B. - **Effect of hormone replacement therapy**

**on cardiovascular events in recently postmenopausal women: Randomised trial.** *BMJ*, 345 (2012) 1–11

72. STUENKEL, C. A., GASS, M. L. S., MANSON, J. E., LOBO, R. A., PAL, L., REBAR, R. W., HALL, J. E. - **A decade after the women's health initiative-the experts do agree.** *Menopause*, 19 (2012) 846–847

73. HODIS, H. N., MACK, W. J. - **Hormone replacement therapy and the association with coronary heart disease and overall mortality: Clinical application of the timing hypothesis.** *J. Steroid Biochem.*, 142 (2014) 68–75

74. VILLIERS, T. J., HALL, J. E., PINKERTON, J. V., PÉREZ, S. C., REES, M., YANG, C., PIERROZ, D. - **Revised Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy.** *Climacteric*, 16 (2013) 203–204

75. GRODSTEIN, F., MANSON, J. E., STAMPFER, M. J., REXRODE, K. - **Postmenopausal Hormone Therapy and Stroke.** *Arch. Intern. Med.*, 168 (2008) 861–866

76. CARRASQUILLA, G. D., FRUMENTO, P., BERGLUND, A., BORGFELDT, C., BOTTAI, M., CHIAVENNA, C., ELIASSON, M., ENGSTROM, G., HALLMANS, G., JANSSON, J.-H., MAGNUSSON, P. K., NILSSON, P. M., PEDERSEN, N. L., WOLK, A., LEANDER, K. - **Postmenopausal hormone therapy and risk of stroke: A pooled analysis of data from population-based cohort studies.** *Plos Med.*, 14 (2017) 1–19

77. ROSSOUW, J. E., ANDERSON, G. L., PRENTICE, R. L., LACROIX, A. Z., KOOPERBERG, C., STEFANICK, M. L., JACKSON, R. D., BERESFORD, S. A., HOWARD, B. V., JOHNSON, K. C., KOTCHEN, J. M., OCKENE, J. - **Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women.** *JAMA- J. Am. Med. Assoc.*, 288 (2002) 321–333

78. LANGER, R. D., SIMON, J. A., PINES, A., LOBO, R. A., HODIS, H. N., PICKAR, J. H., ARCHER, D. F., SARREL, P. M., UTIAN, W. H. - **Menopausal hormone therapy for primary prevention: why the USPSTF is wrong.** *Climacteric*, 20 (2017) 402–413

79. ARAUJO, P. X., COSTA, T. J., ECHEM, C., DE OLIVEIRA, M. A., SANTOS-EICHLER, R. A., COLLI, L. G., JIMÉNEZ-ALTAYÓ, F., VILA, E., AKAMINE, E. H., DANTAS, A. P., CERAVOLO, G. S., DE CARVALHO, M. H. C. - **Treatment with Standard and Low Dose of Conjugated Equine Estrogen Differentially Modulates Estrogen Receptor Expression and Response to Angiotensin II in Mesenteric Venular Bed of Surgically Postmenopausal Hypertensive Rats.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 362 (2017) 98–107

80. ITO, F., TATSUMI, H., MORI, T., SUGANUMA, I., TANAKA, Y., SASAKI, A., MATSUO, S., IWASA, K., KITAWAKI, J. - **Medroxyprogesterone acetate enhances monocyte-endothelial interaction under flow conditions by stimulating the expression of cell adhesion molecules.** J. Clin. Endocr. Metab., 99 (2014) 2188–2197

