

IARA CHAVES PEREIRA DE SOUZA

***AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE À INSULINA EM
MULHERES OBESAS NA PÓS-MENOPAUSA, COM OU SEM
REPOSIÇÃO HORMONAL COMBINADA POR VIA ORAL***

CAMPINAS

2002

IARA CHAVES PEREIRA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE À INSULINA EM
MULHERES OBESAS NA PÓS-MENOPAUSA, COM OU SEM
REPOSIÇÃO HORMONAL COMBINADA POR VIA ORAL**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Mestre em Clínica Médica.*

Orientadora: Prof^a. Dr.^a Elza Olga Ana Muscelli Berardi

CAMPINAS

2002

DE	BC
AMADA	
	UNICAMP
	0889a
EX	
BCI	59575
	16.117-04
<input type="checkbox"/>	D <input checked="" type="checkbox"/>
	14,00

Id 323295

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

So89a

Souza, Iara Chaves Pereira de

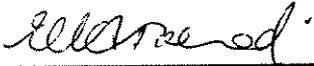
Avaliação da sensibilidade à insulina em mulheres obesas na pós-menopausa, com ou sem reposição hormonal combinada por via oral / Iara Chaves Pereira de Souza. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Elza Olga Ana Muscelli Berardi

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Metabolismo. 2. Obesidade. 3. Resistência à insulina. 4. Hormônios. I. Elza Olga Ana Muscelli Berardi. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): *Profa. Dra. Elza Olga Ana Muscelli Berardi* 

Membros:

1. Professora Doutora Carla de Oliveira Carvalho 
2. Professora Doutora Sarah Monte Alegre 

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/08/02

DEDICATÓRIA

*A meus pais,
Antonio e Delma,
pelo carinho e exemplo
que serão guardados como herança por toda a vida.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos: Ernesto, Nádia e Roberto.

Às irmãs que a vida acrescentou: Fabiana, Flávia e Fernanda.

Às orientadoras, Dra. Elza e Dra. Regina, pelo carinho, dedicação e apoio nas horas difíceis.

Aos amigos da Unidade Metabólica: Mary, Daniela, Márcia, Juliano e Josiane.

Aos técnicos do laboratório: Conceição, Brenno e Aglécio.

Aos funcionários do Ambulatório de Menopausa do CAISM.

À secretária da pós-graduação da FCM, Renata Mota, pela disponibilidade.

Ao colega Luís Paulo Beltrame, pelas palavras de apoio que chegaram no momento certo.

À Prefeitura Municipal de Paulínia.

Ao Helymar Machado e Deise Moreira Silva, do departamento de estatística, pelo apoio.

Aos amigos da Unidade Básica de Saúde do Jardim Planalto e da Unidade de Terapia Intensiva Adulto do HC da UNICAMP, pela preciosa convivência.

*“O temor do Senhor é o princípio da sabedoria,
e o conhecimento do Santo é prudência.”*

Provérbios, capítulo 09, versículo 10

*“Lança o teu pão sobre as águas,
porque depois de muitos dias o acharás”*

Eclesiastes, capítulo 11, versículo 01

	<i>Pág.</i>
RESUMO	<i>xxvii</i>
ABSTRACT	<i>xxxi</i>
1- INTRODUÇÃO	35
Menopausa, definição e fisiopatologia	37
Obesidade	38
Hiperinsulinemia e resistência à insulina	38
Síndrome metabólica	39
Obesidade e sensibilidade à insulina	42
Fatores de risco cardiovascular	42
Menopausa e assuntos correlacionados	44
Terapia de reposição hormonal e assuntos correlacionados	49
2- OBJETIVOS	53
3- MATERIAL E MÉTODOS	57
Tipo, população e local de estudo	59
Estudos	62

Medida do gasto energético.....	65
Estocagem de amostras.....	65
Métodos analíticos	65
Cálculos e fórmulas utilizadas.....	69
Critérios de classificação	71
Análise estatística	73
4- RESULTADOS	75
5- DISCUSSÃO	103
6- CONCLUSÃO	115
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

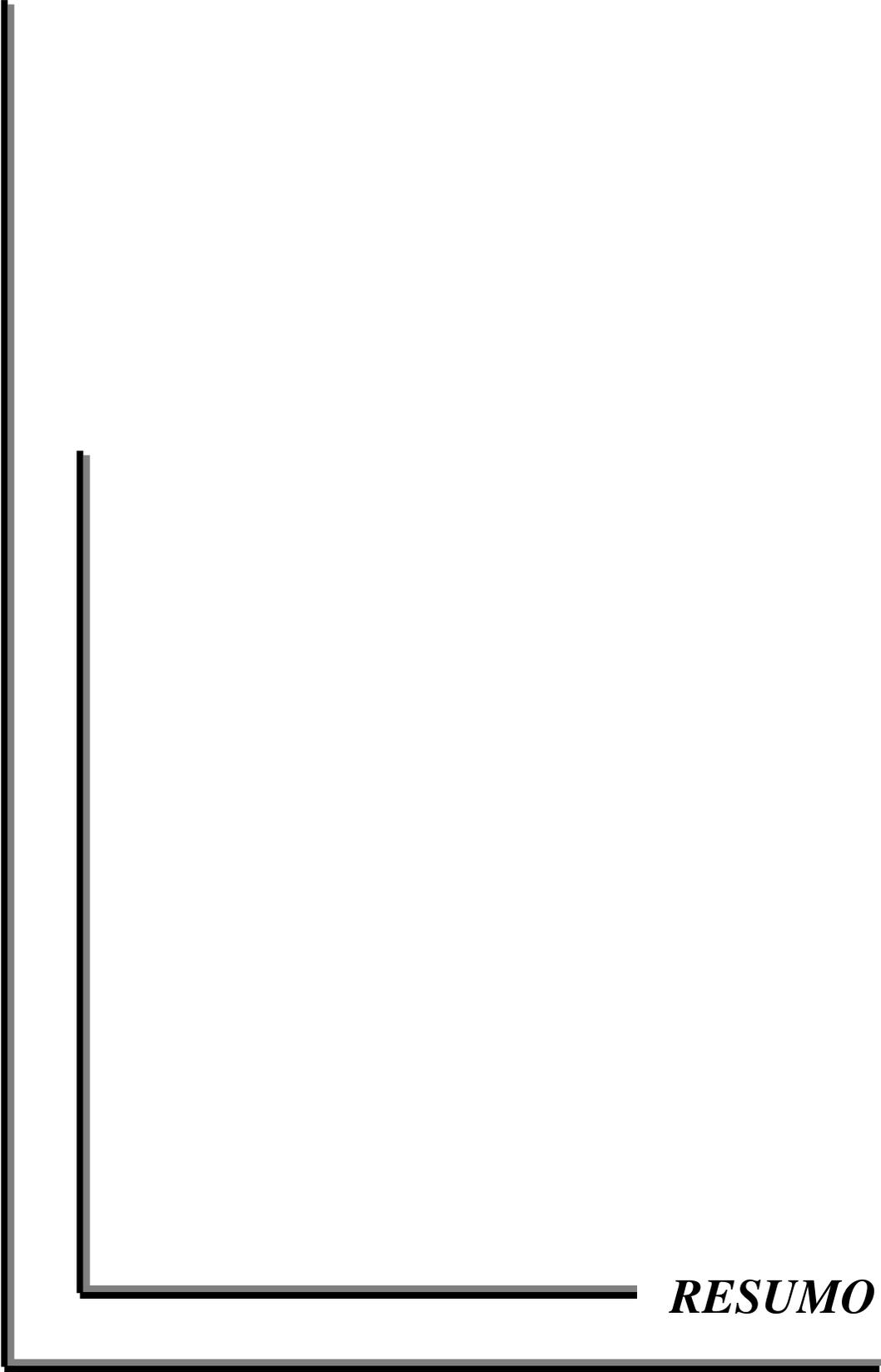
Ác Úrico	Ácido Úrico
ASC	Área sob a curva
AVC	Acidente vascular cerebral
bas	basal
BIA	Bioimpedância Elétrica
bpm	batimentos por minuto
CAISM	Centro de Atenção Integrado da Saúde da Mulher
Cl Ins	Clearence de Insulina
Clamp	Clamp euglicêmico-hiperinsulinêmico
CO ₂	Gás carbônico
Cr	Creatinina
d	Dia
DCC	Doença cardiovascular coronariana
DEXA	Do inglês: Dual-energy X-ray
DM tipo2	Diabetes Mellitus tipo 2
FC	Frequência Cardíaca
FSH	Hormônio Folículo Estimulante

GE	Gasto Energético
glic	Glicemia
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HOMA	Do inglês: Homeostatic Model Assesment
IDR	Insulin Delivery Rate (Taxa de liberação de insulina)
IMC	Índice de Massa Corpórea
ITG	Intolerância à glicose
JNC	Do inglês: Joint National Comitte
K	Potássio
kcal	Quilocalorias
kg	Quilograma
Lib. Ins	Liberção de Insulina
ml	Mililitro
MM	Massa Magra
mm	Milímetro
mmhg	milímetros de mercúrio
Na	Sódio
ns	não significativo (estatística)
O ₂	Oxigênio

°C	Graus Celsius
OGTT	Teste de Tolerância Oral à Glicose (do inglês: Oral Glucose Tolerance Test)
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAS	Pressão Arterial Sistólica
QR	Quociente Respiratório
SS	Do inglês: Steady State (período de estabilidade no clamp)
T4L	Tiroxina Livre
TIG	Termogênese induzida pela glicose
TRH	Terapia de reposição hormonal
TSH	Hormônio Tireo-estimulante
UI	Unidades Internacionais
IG	Intolerância à glicose
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

	Pág.
Tabela 01- Características antropométricas	78
Tabela 02- Resultados da bioimpedância elétrica	79
Tabela 03- Lipidograma e ácido úrico	79
Tabela 04- Dosagens hormonais	81
Tabela 05- Resultados do OGTT	82
Tabela 06- Comportamento da PA e FC no OGTT	84
Tabela 07- Resultados do <i>clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico	86
Tabela 08- Resultados da calorimetria	88
Tabela 09- Utilização de substratos	91
Tabela 10- Resultados da PA e FC durante o <i>clamp</i>	92
Tabela 11- Modificação dos eletrólitos durante o <i>clamp</i>	94
Tabela 12- Relação entre diversas variáveis no grupo inteiro	97
Tabela 13- Resultado da regressão linear simples	98
Tabela 14- Resultado da regressão linear múltipla com critério <i>stepwise</i>	100

	<i>Pág.</i>
Figura 01- Curvas glicêmica e insulinêmica e área sob as curvas correspondentes...	83
Figura 02- Taxa de infusão de glicose, glicemia e insulinemia durante o <i>clamp</i>	87
Figura 03- Resultados da calorimetria durante os períodos basal e <i>steady state</i> , em ambos os grupos	89
Figura 04- Utilização dos substratos durante os períodos basal e <i>steady state</i> do <i>clamp</i> , em ambos os grupos	93
Figura 05- Resultados do sódio e potássio durante o <i>clamp</i>	95
Figura 06- Correlações lineares simples	101



RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da terapia de reposição hormonal, em mulheres na pós-menopausa, sobre o metabolismo dos carboidratos, a composição corporal, o gasto energético e o perfil lipídico. Participaram do estudo 25 mulheres portadoras de sobrepeso ou obesidade, assintomáticas, não diabéticas ou hipertensas e que não faziam uso de medicações que sabidamente alteram o metabolismo da glicose. O grupo foi subdividido em: CASO – formado pelas participantes que faziam uso de reposição hormonal combinada por via oral, na dose de 5 mg/d de acetato de alfadroxiprogesterona e 0,625 mg/d de estrogênios conjugados continuamente (idade: $55,6 \pm 4,3$ anos; IMC: $28,9 \pm 2,2$ kg; n=15) e Controle (CT) - composto por voluntárias que não faziam uso de reposição hormonal (idade: $54,9 \pm 3,1$ anos; IMC: $29,7 \pm 3,7$ kg; n=10).

A composição corporal foi avaliada através da bioimpedância elétrica e a tolerância à glicose pelo teste de tolerância oral à glicose (75g). O *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, com infusão contínua de insulina a $40\text{mU}/\text{m}^2$ de superfície corporal, foi usado para investigar a sensibilidade à insulina. Calorimetria indireta foi realizada em jejum e associada ao *clamp*. Foram ainda avaliados o perfil lipídico, uricemia e leptina sérica em todas as participantes.

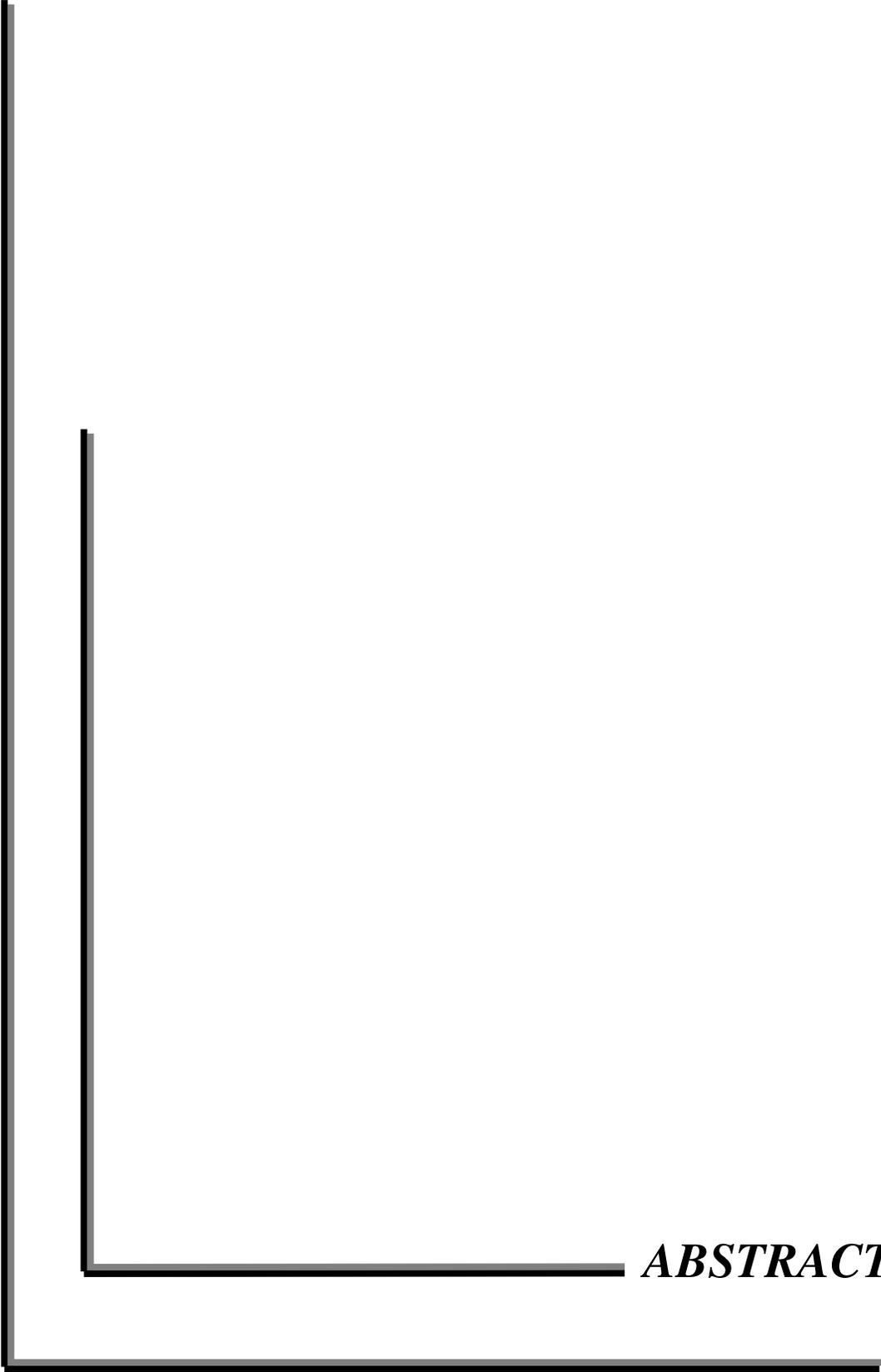
A composição corporal (massa magra/massa adiposa) foi semelhante nos grupos e observou-se uma tendência a maior circunferência da cintura, usada como índice de centralização da gordura, no grupo CT. Não foram evidenciadas diferenças no perfil lipídico entre os grupos e a uricemia tendeu a ser maior no grupo CT. A leptina, com valores séricos similares nos grupos, foi principalmente relacionada ao IMC e à percentagem de gordura corporal. A resposta glicêmica foi maior no grupo CT do que no CASO (1083 ± 115 vs. 971 ± 120 mmol/l.2h; $p=0.04$), embora a glicemia de jejum fosse semelhante. Apesar dos valores da insulinemia em jejum e após estímulo com glicose serem mais elevados no grupo controle, a diferença não alcançou significância estatística ($p=0,08$).

Observamos que não houve diferença de sensibilidade à insulina entre os grupos, que comparativamente a estudos prévios foram resistentes à ação insulínica (M *value* $-\mu\text{mol}/\text{kg}\cdot\text{min} = 21.8 \pm 8.4$ e 21.1 ± 8.5 em CASO e CT, respectivamente).

O gasto energético basal, corrigido pelo peso corporal ou pela massa magra não diferiu entre os grupos e aumentou durante a infusão de insulina, de forma não significativa. O aumento do quociente respiratório durante o período *steady state* do *clamp vs.* período basal foi significativo e similar entre os grupos, assim como a oxidação de glicose. A oxidação protéica não se modificou durante a infusão de insulina, enquanto a redução da oxidação lipídica foi significativa em ambos os grupos. Ocorreram reduções, similares nos 2 grupos, da pressão arterial diastólica e do potássio sérico durante a infusão de insulina.

Em regressão linear *stepwise* verificou-se que a cintura foi o principal determinante da sensibilidade à insulina, que por sua vez foi o principal determinante da insulinemia de jejum e após sobrecarga oral de glicose.

Concluimos que, apesar de não haver diferenças significativas entre os grupos em relação à sensibilidade à insulina, verificou-se nas participantes do grupo CT maiores níveis de glicemia em resposta à ingestão de glicose. Desta forma, a reposição hormonal exerceria um papel benéfico no metabolismo da glicose e na distribuição da gordura corporal. Há, no entanto, necessidade de novos estudos, com um maior número de participantes, para confirmar esta hipótese.



ABSTRACT

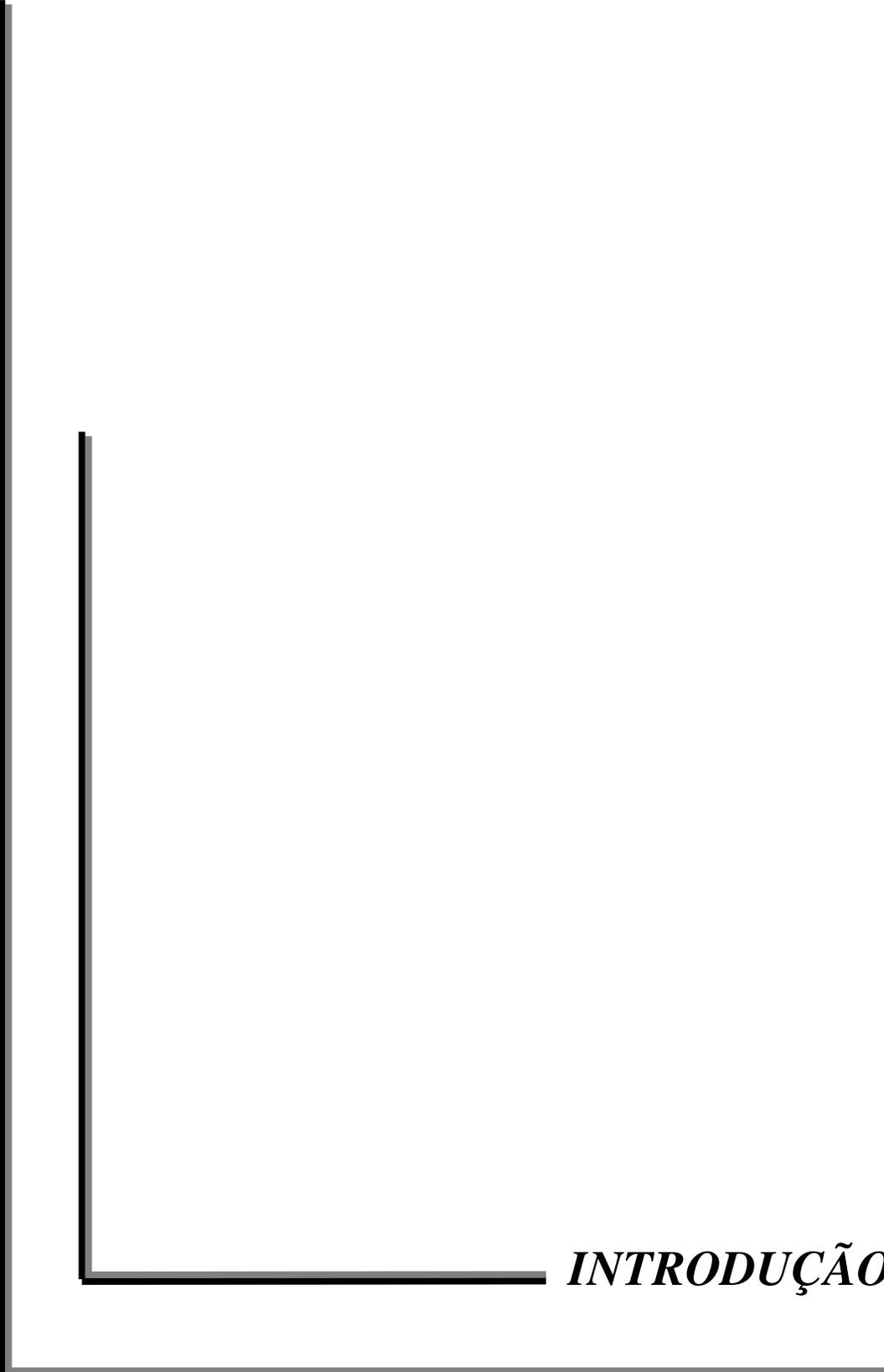
To examine the relationship between insulin sensitivity and hormone replacement therapy in postmenopausal women, twenty-five overweight or obese volunteers were evaluated. Of them, 15 (55.6 ± 4.3 years; BMI: 28.9 ± 2.2 kg.m²) were under hormone replacement therapy (HRT) and 10 (54.9 ± 3.1 years; BMI: 29.7 ± 3.7 kg.m²) were not (CT). None of them was under other therapy known to affect insulin action or secretion and, diabetic and hypertensive patients were excluded. Body composition was measured using bioelectrical impedance. All participants were submitted to an oral glucose tolerance test (75g of glucose) and to evaluation of the lipid profile, leptin and uric acid serum levels. Indirect calorimetry was performed to assess energy expenditure, oxidative and non-oxidative glucose disposal and lipid and protein utilization during insulin clamp. Insulin sensitivity was evaluated in 18 of these women using the euglycemic hyperinsulinemic clamp – insulin infusion of 40mU/ min.m² for 2 hour.

Body composition (fat/free fat mass) was similar, while waist tended to be higher in the control group. Hormone replacement did not influence leptin levels, plasma lipids or fasting plasma glucose while there was a trend to lower serum uric acid levels in the HRT group. Glucose area under the curve in the oral glucose tolerance test was higher in the control group (1083 ± 115 vs. 971 ± 120 mmol/l.2h; $p=0.04$), while fasting plasma insulin and insulin area under the curve tended to be higher in this group ($p=0.08$). Insulin sensitivity was similar in both groups: M value ($\mu\text{mol/kg.min}$) = 21.8 ± 8.4 (HRT) and 21.1 ± 8.5 (CT), as well the oxidative and non-oxidative glucose disposal, lipid oxidation reduction and protein oxidation. M value was inversely associated to BMI, % body fat and mainly to waist. In addition, it was the main determinant of insulin levels at fasting state or after oral glucose load. Energy expenditure normalized to body weight or to free fat mass, in the fasting state and under insulin infusion, was similar in the groups. The glucose induced thermogenesis was not significant, while the respiratory quotient increased significantly during the steady state period of the clamp in both groups. It was observed a decrease in diastolic blood pressure and an increase in the heart rate during the OGTT and during the insulin clamp similar to the groups.

Concluding, it is possible that HRT acts on glucose metabolism improving the response to a glucose load, even though it does not improve insulin sensitivity in obese and overweight

postmenopausal women. And a high frequency of glucose intolerance with normal fasting plasma glucose was observed in these women. The results suggest that obesity and body fat distribution are the main factors influencing insulin action in the studied group, blunting any possible HRT effect.

Key Words: Menopause, insulin resistance, hormone replacement, glucose clamp.



INTRODUÇÃO

MENOPAUSA: DEFINIÇÃO E FISIOPATOLOGIA

Menopausa é um termo de origem grega, que significa o término dos fluxos menstruais, a data da última menstruação, a qual coincide com o fim da atividade folicular ovariana. O período que a antecede é chamado pré-menopausa e, o que a sucede, pós-menopausa. O intervalo de um a dois anos que a precede, no qual é comum a ocorrência de irregularidade menstrual e o de um ano após, onde pode haver um novo fluxo, é chamado de perimenopausa (BARACAT, 1998). O climatério corresponde ao período no qual há regressão da função ovariana, e vai da menopausa à senectude. A menopausa ocorre em torno dos 50 anos, havendo uma variação dos 49 aos 51 anos. É precoce quando ocorre antes dos 40 e tardia após os 52 anos (BARACAT e colaboradores, 2001).

Com a menopausa, as concentrações de FSH e LH se tornam aumentadas e os níveis de estrógenos diminuem, enquanto os níveis de andrógenos diminuem apenas discretamente.

Clinicamente, o diagnóstico é feito se houver amenorréia por mais de 6 meses e ou sintomas vasomotores (ondas de calor e sudorese noturna). Se o quadro não estiver claro, pode-se dosar o FSH, considerando-se como diagnóstico os valores acima de 30U/l (WEISSMAN, 2001).

Após a menopausa, os ovários continuam a secretar andrógenos (androstenediona e testosterona) que juntamente com os andrógenos adrenais são convertidos em estrógeno por conversão extraglandular periférica. Esta conversão periférica de andrógeno é responsável pela maior parte do estrógeno circulante nas mulheres na pós-menopausa (REBAR, 1996).

No Brasil, a expectativa de vida ao nascer, para as mulheres é de cerca de 73 anos (IBGE). Assim, existe uma perspectiva de que as mulheres vivam cerca de um terço de suas vidas na pós-menopausa.

OBESIDADE

A obesidade tem sido reconhecida como um problema de saúde pública no Brasil (fonte: Ministério da Saúde). Ela está associada à ocorrência de doenças dermatológicas, respiratórias, do aparelho locomotor e favorecimento de enfermidades como dislipidemias, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 e certos tipos de câncer. De forma similar ao que ocorreu nos países desenvolvidos, a população adulta no Brasil vem apresentando um aumento na prevalência do excesso de peso. A obesidade, definida como índice de massa corporal, IMC, acima de 30 kg/m^2 , acomete cerca de 8% da população, dos quais 70% são mulheres (PNSN, 1989). A prevalência do excesso de peso tende a aumentar com a idade, atingindo, na faixa etária de 45 a 54 anos, 37% dos homens e 55% das mulheres (PNSN, 1989). Existem algumas hipóteses para o crescente aumento do peso na população adulta, como mudanças na estrutura demográfica do país, entre elas a urbanização e aumento na expectativa de vida. São também fatores importantes, o declínio no gasto energético dos indivíduos, quer por predomínio de ocupações que demandam menor esforço físico, em decorrência do avanço tecnológico e urbanização da população, quer como resultado da diminuição da atividade física associada ao lazer e o aumento progressivo de consumo de gordura e de alimentos altamente calóricos (PNSN, 1991; MONTEIRO, 1998).

Dessa forma, a prevalência crescente da obesidade em diversas populações, bem como sua associação com altas taxas de morbidade e mortalidade (BARNARD e colaboradores, 1992; DONAHUE e colaboradores, 1992), justificam os estudos para esclarecer sua fisiopatologia e medidas de prevenção e tratamento.

HIPERINSULINEMIA E RESISTÊNCIA À INSULINA

Define-se a resistência à insulina como uma resposta biológica diminuída a uma ou mais de suas ações (FERRANNINI, 1999). Hiperinsulinemia tem sido conceituada em vários estudos como uma concentração de insulina relativamente elevada no jejum ou em

resposta à ingestão oral de glicose (SCHMIDT e colaboradores, 1996). Existem evidências de hipersecreção deste hormônio, compensatória, nos diferentes estados de resistência à insulina. Assim, considera-se a detecção de níveis elevados de insulina em jejum ou após estímulo glicídico um indicador de menor sensibilidade às ações insulínicas. A sensibilidade à insulina pode ser avaliada pelo *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, considerado o método padrão ouro. Este, contudo, é dotado de limitações para utilização em estudos de larga escala devido à sua complexidade, alto custo, tempo longo de realização e necessidade de laboratório próprio e pessoal capacitado.

Existem evidências da associação da hiperinsulinemia com doença cardiovascular coronariana e estudos metabólicos têm associado a resistência à insulina e hiperinsulinemia compensatória com hipertensão arterial sistêmica, obesidade e dislipidemia (DAVIDSON, 1995).

SÍNDROME METABÓLICA

O grupo de alterações metabólicas composto por hiperglicemia, hiperinsulinemia, hipertensão arterial e aumento dos triglicérides com diminuição dos níveis séricos de HDL colesterol foi denominado de Síndrome X por REAVEN, em 1988.

A denominação atual recomendada é Síndrome Metabólica e recentemente foram definidos os critérios para seu diagnóstico (ATP III, 2001). Em geral, tem sido associada com aceleração da aterogênese e doença cardiovascular (FERRANINI, 1999).

Alguns estudos demonstraram uma associação de hiperuricemia e síndrome de resistência à insulina ou síndrome metabólica (SCHMIDT e colaboradores, 1996; LEE e colaboradores, 1995).

Assim, indivíduos com Síndrome Metabólica têm maior risco de desenvolver DM (HAFFNER e colaboradores, 1992) e doença cardiovascular (ISOMAA e colaboradores, 2001), bem como um aumento da mortalidade cardiovascular e por causas diversas (TREVISAN e colaboradores, 1998).

FORD e colaboradores, em 2002, observaram a alta prevalência desta Síndrome na população norte-americana de adultos.

O ATP III (2001) detalhou os novos critérios para o diagnóstico da Síndrome Metabólica. Indivíduos que apresentem pelo menos 3 dos critérios descritos a seguir serão considerados como portadores desta Síndrome:

Obesidade central: C > 102 cm para os homens e > 88 cm para as mulheres;

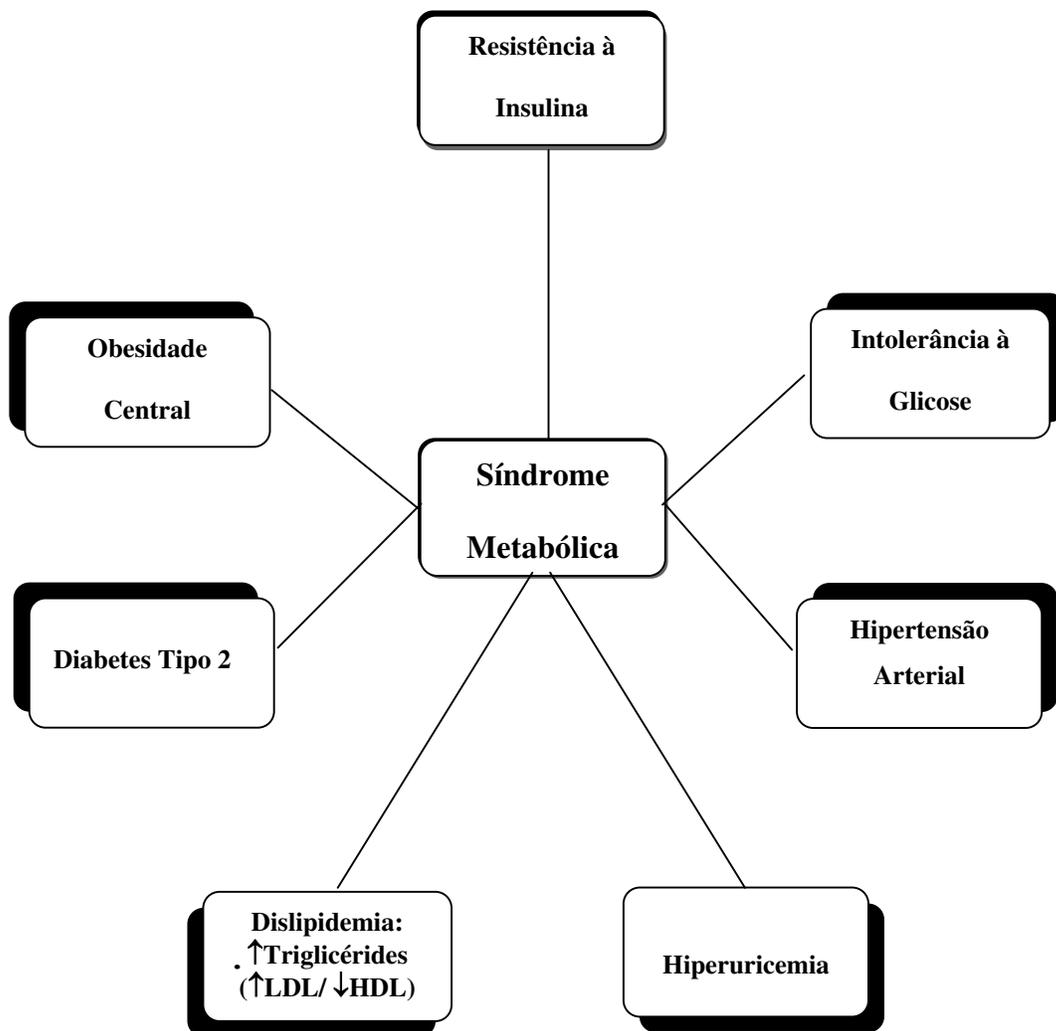
Aumento dos triglicérides: $\geq 1,69$ mmol/l;

Baixo HDL : < 1,09 mmol/l para os homens e < 1,29 mmol/l para as mulheres;

Níveis pressóricos $\geq 130/85$ mmHg;

Glicemia de jejum $\geq 6,1$ mmol/l.

Assim, a resistência à insulina está associada a um grupo de anormalidades vasculares e metabólicas, incluindo:



OBESIDADE E SENSIBILIDADE À INSULINA

A hiperinsulinemia e a resistência periférica à insulina, verificada através da diminuição da captação total de glicose (*M value* obtido no *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico), bem como a hipersecreção de insulina têm sido demonstradas em obesos por diversos autores (BARON e colaboradores, 1993; MUSCELLI e colaboradores (b), 1998). A resistência à insulina tem-se associado diretamente ao IMC, à relação cintura-quadril (C/Q), à produção endógena de glicose, à secreção de insulina, às concentrações séricas de triglicérides e ácido úrico (POLONSKI e colaboradores, 1988; MUSCELLI e colaboradores, 1998, GARVEY e colaboradores, 1993).

A hiperinsulinemia em obesos parece relacionada à hipersecreção hormonal (POLONSKI e colaboradores, 1988), pois tem-se relatado valores normais do *clearance* de insulina.

FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR

Estudos prospectivos têm sido realizados com a finalidade de identificar os principais fatores de risco para cardiopatia isquêmica, destacando-se entre eles a hipercolesterolemia, a hipertensão arterial e o tabagismo. Outros fatores como obesidade, diabetes, intolerância à glicose e hipertrigliceridemia também parecem relevantes (FONTBONNE, 1991).

Alguns estudos prospectivos também têm descrito a hiperinsulinemia como fator de risco independente para doença aterosclerótica cardiovascular (DESPRÈS e colaboradores, 1996), mesmo em indivíduos magros. Ela parece ser importante também para aumentos de triglicérides e LDL colesterol na apolipoproteína B (NABULSI e colaboradores, 1995).

A intolerância à glicose e hiperinsulinemia estão identificadas como fatores de risco para doença cardíaca coronariana, DCC, independente de outros fatores.

Alguns autores postulam que a duração da resistência à insulina com conseqüente hiperinsulinemia representaria o distúrbio metabólico principal entre os diversos fatores de risco para cardiopatia isquêmica (DONAHUE, 1992). Além da obesidade, a distribuição de gordura do tipo central, tem sido descrita como um elo importante entre hiperinsulinemia e risco cardiovascular (BONORA e colaboradores, 1996).

Indivíduos com cardiopatia isquêmica apresentam níveis séricos elevados de ácido úrico (PERSKY e colaboradores, 1979), sendo esta associação observada com maior freqüência entre as mulheres na menopausa do que nos homens (CAPUCCIO e colaboradores, 1994).

Segundo alguns autores, a hiperuricemia pode até mesmo ser usada como um marcador da resistência à insulina (VUORINEN-MARKKOLA, 1994). Demonstra-se a hiperuricemia em indivíduos obesos (WABITSCH e colaboradores, 1994; MUSCELLI e colaboradores, 1997), associada à dislipidemia (ZAVARONI e colaboradores, 1993), à insuficiência cardíaca (LEVYA e colaboradores, 1997), como preditor de diabetes mellitus (DM) tipo 2 (PERRY e colaboradores, 1995) e de acidente vascular cerebral em diabéticos tipo 2 (LEHTO e colaboradores, 1998).

A hiperuricemia também tem sido associada à hiperinsulinemia (VUORINEN MARKKOLA, 1994; SINAGRA e colaboradores, 1996), ao IMC (CIGOLINI e colaboradores, 1995; RATHMANN e colaboradores, 1998), à hipertrigliceridemia (NAKAMURA, 1996) e a maior mortalidade cardiovascular em mulheres na menopausa (FREEDMAN e colaboradores, 1995).

DISTRIBUIÇÃO DA GORDURA CORPORAL E RISCO DE DOENÇA CARDIOVASCULAR

LAPIDUS e colaboradores (1984) observaram cerca de 1400 mulheres com idade de 38 a 60 anos, em estudo populacional com 12 anos de duração. Nestas mulheres, a relação cintura/quadril (C/Q) teve uma correlação positiva com a incidência de infarto do

miocárdio, angina, acidente vascular cerebral e morte. A associação da C/Q com infarto do miocárdio foi independente da idade, IMC, tabagismo, concentração sérica de colesterol e pressão arterial sistólica. As correlações entre o índice C/Q e infarto, angina, acidente vascular cerebral (AVC) e morte foram mais fortes que as observadas para as outras variáveis antropométricas.

Vários autores têm demonstrado que a distribuição central de gordura associa-se a um piora no metabolismo de glicose e a doença cardiovascular (KISSEBACH e colaboradores, 1982; YAMASHITA e colaboradores, 1996), mesmo em mulheres magras (REXRODE e colaboradores, 1998).

MENOPAUSA E RISCO DE DOENÇA CARDIOVASCULAR

Os anos posteriores à menopausa associam-se a uma incidência aumentada de obesidade (WILLIAMSON e colaboradores, 1990; WILLIAMSON, 1991), hipercolesterolemia, HAS (HIRSCH, 1985) e DM tipo 2 (VAN ITALLIE, 1985).

A incidência de cardiopatia isquêmica apresenta-se significativamente elevada no sexo masculino em relação ao feminino até a menopausa (PUGEAT e colaboradores, 1995), sendo o risco de doença cardiovascular cerca cinco vezes maior nos homens do que nas mulheres. Após a menopausa, porém, a incidência de DCC aumenta significativamente, bem como a gravidade destes eventos (GORDON e colaboradores, 1978). Esta é uma das razões pelas quais tem se atribuído aos estrógenos um efeito protetor para a DCC no sexo feminino.

HERNANDÉZ-ONO e colaboradores, em 2001 constataram que mulheres na menopausa com maior quantidade de gordura visceral, medida através de tomografia axial, possuem um perfil metabólico menos favorável, com maiores glicemia e insulinemia de jejum, trigliceridemia e apolipoproteína B e menores níveis séricos de HDL colesterol.

Neste estudo, o ponto de corte para a gordura visceral foi de 117,8cm², equivalente a uma cintura de 84 cm. Os resultados de YAMASHITA e colaboradores, em 1996, foram também compatíveis com esta associação.

SITES e colaboradores, em 2002, observaram que a pós-menopausa caracteriza-se pela ocorrência de níveis séricos elevados de fator de necrose tumoral, TNF-alfa. Constataram, também, que os níveis de proteína C reativa podem representar um aumento do risco cardiovascular nas mulheres na menopausa devido à sua associação com maiores concentrações de gordura intraabdominal.

MENOPAUSA, OBESIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE GORDURA

Na menopausa ocorrem algumas alterações físicas na mulher. Há evidências quanto ao aumento de peso, da porcentagem de gordura corporal (LEY e colaboradores, 1992) e de diminuição da massa magra (POEHLMAN e colaboradores, 1995). Há, ainda, uma redistribuição da gordura corporal, com centralização da mesma (LEY e colaboradores, 1992; POEHLMAN e colaboradores, 1995).

POEHLMAN e colaboradores, em 1995, observaram no período que sucede a menopausa, modificações na distribuição da gordura corporal, enquanto LEY e colaboradores (1992) relataram que mulheres na pós-menopausa apresentaram modificações da composição corporal, avaliada através da DEXA, quanto à proporção de massa magra/massa adiposa. Encontraram cerca de 20% mais gordura corporal em mulheres na pós-menopausa comparadas àquelas na pré-menopausa e uma centralização da gordura corporal nas primeiras.

Quanto ao peso, alguns autores encontraram um aumento após a menopausa, enquanto outros observaram apenas um redistribuição de gordura.

Sabe-se, no entanto, que a prevalência de obesidade aumenta com a idade, tendo seu maior valor dos 45 aos 54 anos, com predomínio nas mulheres (PNSN, 1989). Assim, talvez mais que as alterações hormonais que ocorrem com a chegada da menopausa, a idade seja o fator relevante para o ganho ponderal que se observa nesta fase.

No entanto, em um estudo brasileiro, LINS (2001), observou em cerca de 1500 mulheres, que havia um risco aumentado da ocorrência de sobrepeso após a menopausa. Seus resultados também mostraram que a escolaridade e renda só estavam associados ao peso nas mulheres na pré-menopausa. A conclusão deste estudo foi de que a associação entre menopausa e obesidade não se explicava pela idade ou atividade física.

Nas mulheres na pós-menopausa, o sedentarismo também pode contribuir para o aumento de peso. Estudo prospectivo com 492 mulheres entre 50 e 64 anos, nos Estados Unidos, entre 1988 e 1993, evidenciou que menos da metade delas referiu praticar atividade física e apenas 27% fazia exercícios de alta intensidade (MC TIERNAN e colaboradores, 1998).

Também é possível que as alterações hormonais contribuam para a maior tendência das mulheres para aumentarem de peso, pois observam-se maiores ganhos ponderais nos períodos onde aquelas alterações são mais intensas, tais como na puberdade, gravidez e menopausa (MEIRELLES, 1999). No entanto, a participação dos hormônios sexuais na etiologia da obesidade a partir da menopausa não está completamente esclarecida (MILEWICZ e colaboradores, 1996). Há evidências que os estrógenos reduzam a atividade da lipase lipoproteica do tecido adiposo, participando assim da regulação da distribuição da gordura corporal, enquanto a massa adiposa permanece inalterada (PRICE e colaboradores, 1998). Por outro lado, há evidências que a resistência à insulina, hiperinsulinemia, obesidade do tipo central, alterações da atividade adrenocortical e da secreção dos hormônios sexuais representam condições clínicas com fatores genéticos em comum (KOPELMAN¹⁹⁹⁴; SAMARAS e colaboradores, 1997).

POEHLMAN e colaboradores (1998) propõem que a modificação da composição corporal após a menopausa se daria também por diminuição concomitante da massa magra, MM. Estes autores relataram também diminuição no gasto energético basal, aumento da insulina de jejum e da relação C/Q, sem modificações da glicemia. Porém, estes achados são controversos, pois TOTH e colaboradores, em 2000 não observaram diferenças na MM ao estudar mulheres na pré-menopausa e pós-menopausa.

Entretanto, a gordura corporal total, subcutânea e intraabdominal mostraram-se mais elevadas nas mulheres na pós-menopausa.

A diminuição do gasto energético basal, observada após a menopausa, também ocorre no sexo masculino com o aumento da idade (CAMASTRA e colaboradores, 1999) . Portanto, esta mudança pode não estar diretamente relacionada à menopausa e às modificações antropométricas decorrentes das alterações hormonais, e sim à idade.

PERRY e colaboradores, em 1997 compararam várias formas de medida da centralização de gordura: índice C/Q, índice C/altura e cintura e não encontraram diferenças causadas pela transição da menopausa na associação destes índices aos fatores de risco para doença cardiovascular, que manteve-se significativa. Além disto, o IMC, a relação C/Q e a medida da cintura, que são medidas muito simples, têm se mostrado bons preditores e independentes para o aparecimento de diabetes melittus tipo 2 (CAREY e colaboradores, 1997).

MENOPAUSA E SENSIBILIDADE À INSULINA

O efeito da menopausa sobre a sensibilidade à insulina ainda não é bem claro. Estudos em animais, no entanto, têm evidenciado menor sensibilidade à insulina relacionada à diminuição dos hormônios ovarianos (KUMAGAI e colaboradores, 1993).

Em humanos, um dos estudos que avaliou a sensibilidade à insulina na transição da menopausa, demonstrou sensibilidade 50% maior nas mulheres que se encontravam na pós-menopausa (WALTON e colaboradores, 1993), enquanto TOTH e colaboradores, em 2000, não observaram diferenças na sensibilidade à insulina em mulheres com IMC inferior a 30kg/m^2 , comparando voluntárias na pré e pós-menopausa, através da técnica do *clamp* euglicêmico.

O período pós menopausa parece ser associado a hiperinsulinemia, que por sua vez se relaciona com a resistência à insulina, sugerindo que haja uma menor ação da insulina neste período.

É possível que principalmente o aumento ponderal e a centralização de gordura contribuam para a ocorrência de menor sensibilidade à insulina após a menopausa, ao invés de fatores hormonais. Em concordância, SITES e colaboradores, em 2000, observaram uma relação direta entre a centralização de gordura e menor sensibilidade à insulina na pós-menopausa. WU e colaboradores, em 2001, constataram que em mulheres sem TRH e idade à menopausa acima de 49 anos, o tempo decorrido desde a menopausa exerceu influência negativa sobre o metabolismo da glicose, aumentando o risco de intolerância à glicose em 6% a cada ano.

MENOPAUSA, PERFIL LIPÍDICO E URICEMIA

Após a menopausa, observa-se uma tendência à elevação dos níveis séricos do colesterol total, às custas de um aumento da fração LDL, enquanto que o HDL colesterol não se altera (DON GAMBRELL e colaboradores, 1991), ou diminui (WINGROVE e colaboradores, 1998). Aumentos de triglicérides também têm sido descritos.

WINGROVE e colaboradores, em 1998 avaliaram 50 mulheres na pré-menopausa e 88 na pós-menopausa e observaram que os níveis séricos de ácido úrico eram significativamente maiores nas mulheres na pós-menopausa mesmo após ajuste para IMC. Correlações significativas também foram encontradas entre uricemia e os componentes da síndrome metabólica em ambos os grupos. O IMC mostrou-se com valor preditivo independente para a concentração de ácido úrico na pré-menopausa, demonstrando diferenças no metabolismo feminino nas diferentes fases hormonais.

A observação descrita de associação da uricemia e cardiopatia isquêmica mais freqüente em mulheres, possivelmente se deva ao aumento dos níveis séricos de ácido úrico após a menopausa (MIKKELSEN e colaboradores, 1965). Nas mulheres em idade reprodutiva, entretanto, estes níveis são menores, possivelmente em função do maior *clearance* renal desta substância (MATEOS e colaboradores, 1986). Os mecanismos responsáveis por estas variações não estão completamente esclarecidos e podem relacionar-se a fatores hormonais e/ou metabólicos, entre eles a insulina e os estrógenos (MATEOS e colaboradores, 1986).

TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL

A prescrição de TRH na menopausa vem crescendo nas últimas décadas. A utilização dos estrógenos tem sido indicada para alívio dos sintomas vasculares, prevenção e/ou tratamento da osteoporose e redução do risco cardiovascular (STEVENSON e colaboradores, 1994; LIP e colaboradores, 1995; MC NAGNY e colaboradores, 1997). A associação de progestágenos se faz necessária para mulheres com útero, a fim de protegê-las da ocorrência do câncer de endométrio (GRADY e colaboradores, 1992). Mulheres saudáveis de alto *status* socioeconômico e educacional, com maior frequência aderem a esta terapêutica (MC NAGNY e colaboradores, 1997; LANGENBERG e colaboradores, 1997). Outra possível indicação seria por apresentar efeitos favoráveis no metabolismo da glicose (FERRARA e colaboradores, 2001). Estes efeitos, porém, são bastante controversos e há necessidade de mais avaliações.

REPOSIÇÃO HORMONAL E RISCO CARDIOVASCULAR

Vários estudos demonstraram efeitos benéficos da TRH sobre os fatores de risco para doença cardiovascular coronariana (CROOK e colaboradores, 1997). HULLEY e colaboradores, em 1998, avaliaram cerca de 2700 mulheres na menopausa portadoras de doença coronariana estabelecida. Constataram diminuição dos valores de LDL colesterol e aumento do HDL nas participantes que fizeram uso de TRH. Apesar disto, não houve diminuição na incidência de eventos coronarianos em um seguimento de quatro anos. Portanto, neste caso, a TRH não foi eficaz na prevenção secundária de doença cardiovascular. Concordantes com estes resultados foram os relatados por GRADY e colaboradores (2002) que em um estudo prospectivo de 6,8 anos, com cerca de 2700 mulheres na pós-menopausa, observou que o uso da TRH não foi eficaz na prevenção secundária de doença coronariana. HULLEY e colaboradores (2002) também observaram que houve aumento na ocorrência de eventos tromboembólicos e cirurgia do trato biliar nas mulheres que faziam uso de TRH, nesta mesma população.

Estudo multicêntrico em mulheres na pós-menopausa, recebendo reposição hormonal na dose de 2,5 mg ao dia de acetato de medroxiprogesterona e 0,625 mg ao dia de estrógenos conjugados, por via oral, foi recentemente publicado e demonstrou aumento dos eventos cardiovasculares e da incidência de carcinoma de mama (WHI, 2002), propondo que os riscos da TRH combinada superam seus benefícios.

REPOSIÇÃO HORMONAL E DISTRIBUIÇÃO DA GORDURA CORPORAL

KRITZ-SILVERSTEIN e colaboradores, em 1996, observaram que o uso a longo prazo ou intermitente da TRH não explicou ou preveniu o ganho de peso e a centralização da gordura comumente observados na pós-menopausa. No entanto, estes resultados são controversos, pois outro estudo prospectivo demonstrou que a TRH melhorou parcialmente o aumento de peso observado na pós-menopausa e preveniu a centralização de gordura (GAMBACCIANI e colaboradores, 1997). SITES e colaboradores em 2001, também observaram que mulheres em uso de TRH apresentavam menor peso, IMC, massa adiposa, pico de volume de oxigênio (VO₂) e gordura visceral em relação às aquelas sem TRH. Após ajuste para o pico de VO₂ e para a gordura total, permaneceu uma tendência a menor gordura visceral nos dois casos.

REPOSIÇÃO HORMONAL E SENSIBILIDADE À INSULINA

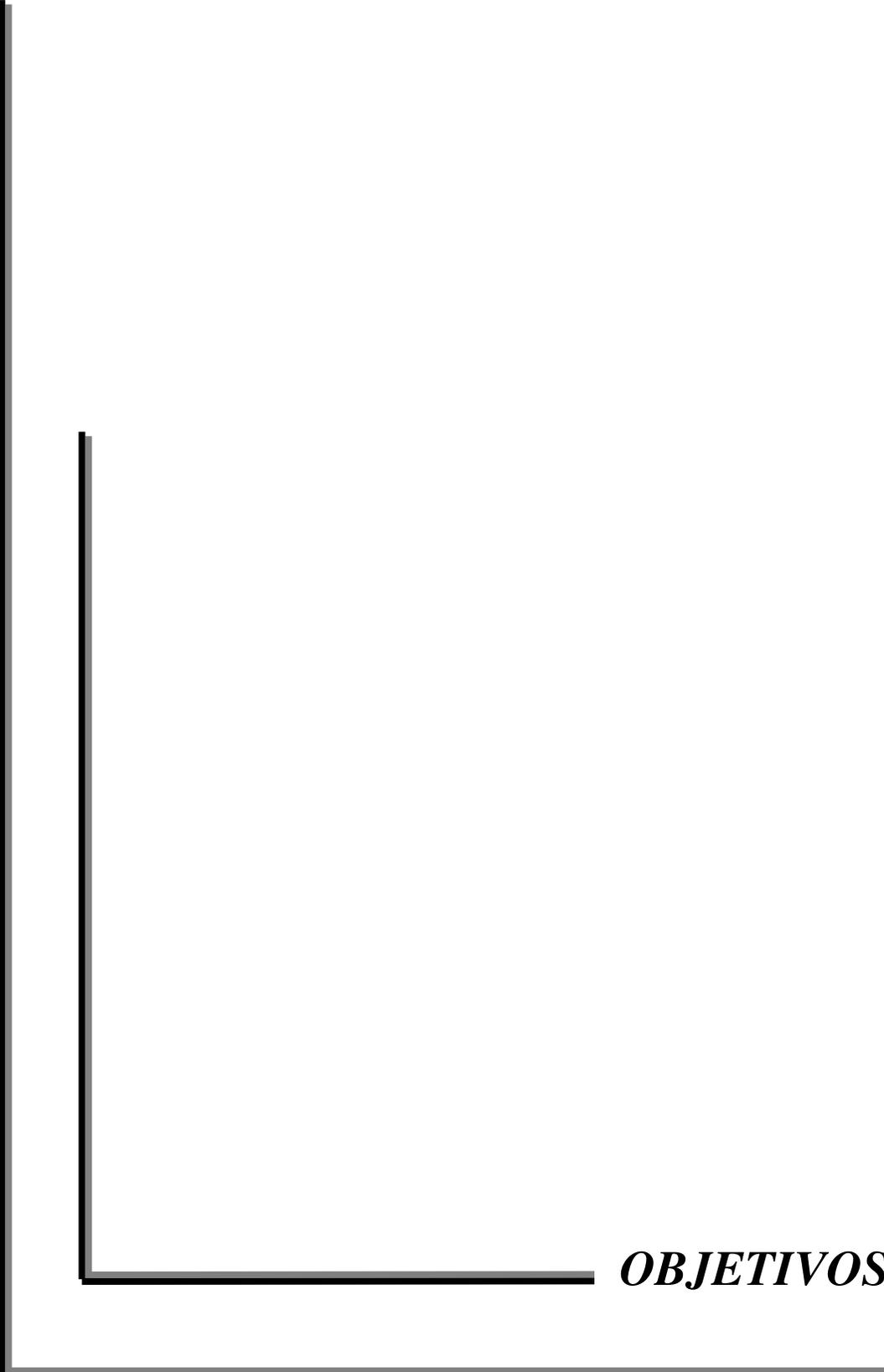
Os efeitos da utilização da TRH sobre a sensibilidade à insulina não são bem conhecidos. Os resultados encontrados na literatura são bastante controversos. Observou-se desde nenhum efeito da TRH sobre a sensibilidade à insulina em mulheres magras e portadoras de sobrepeso (SITES e colaboradores, 2001; DUNCAN e colaboradores, 1999), até uma importante melhora deste parâmetro (CROOK e colaboradores, 1997). Ainda discordantes são os resultados de RYAN e colaboradores (2002) que observaram que mulheres sob reposição hormonal com estrógenos ou com uma combinação de estrógenos e progesterona eram mais resistentes à insulina.

Os estudos sobre a utilização da TRH em mulheres com diagnóstico de DM tipo 2 mostram resultados controversos, que vão de uma melhora no controle glicêmico (FERRARA e colaboradores, 2001) até nenhum efeito sobre a glicemia (PALIN e colaboradores, 2001).

OBESIDADE, MENOPAUSA, RISCO CARDIOVASCULAR E TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL

Conforme descrito, os estudos atualmente existentes sobre os efeitos da TRH na sensibilidade à insulina são inconclusivos. Talvez isso se deva às diferentes populações e aos diferentes métodos utilizados. Para a avaliação da sensibilidade à insulina o método considerado padrão ouro é o *clamp* euglicêmico, que tem limitações para utilização em larga escala. Outros métodos não são tão eficazes, principalmente em indivíduos com sensibilidade diminuída para níveis intermediários (MUSCELLI - comunicação pessoal). A avaliação em larga escala da centralização de gordura também tem limitações bem como a diferenciação da gordura visceral e subcutânea.

As informações sobre os efeitos metabólicos da TRH, quando utilizada por mulheres com sobrepeso ou obesas, são escassas. Assim, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliarmos estes aspectos, que ainda não encontraram uma resposta definitiva, em mulheres obesas, na pós-menopausa e sob TRH combinada.



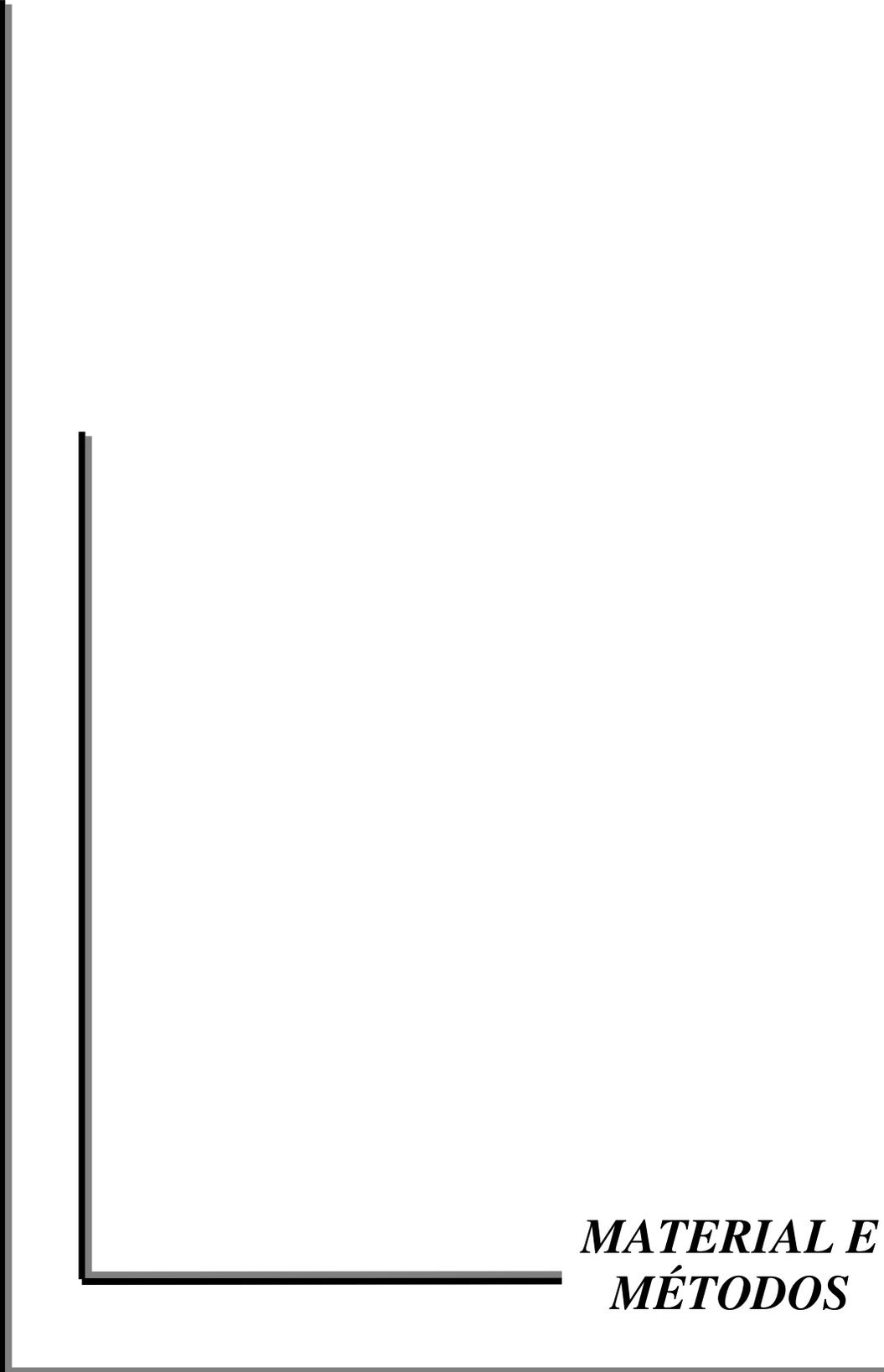
OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

O objetivo principal consistiu no estudo da sensibilidade à insulina através da técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, em mulheres portadoras de sobrepeso e obesidade na pós-menopausa, sem (grupo CT) e com (grupo CASO) reposição hormonal combinada por via oral.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar a resposta ao Teste de Tolerância Oral à Glicose;
- Avaliar os efeitos da insulina nas diferentes vias metabólicas (glicídica, lipídica e protéica) e medir o gasto energético através da calorimetria indireta em condições basais e durante o *clamp*;
- Avaliar a composição corporal através da bioimpedância elétrica;
- Correlacionar os diferentes achados entre si e os parâmetros antropométricos (IMC, C, C/Q);
- Determinar os níveis séricos de estrógeno, FSH, T4 livre e TSH;
- Avaliar o comportamento do sódio e potássio durante a infusão de insulina no *clamp*;
- Avaliar o comportamento da pressão arterial e frequência cardíaca durante o OGTT e o *clamp*;
- Dosar os valores séricos dos lipídeos e ácido úrico;
- Comparar os resultados obtidos entre os grupos CASO e controle, que deverão ser pareados quanto à idade, IMC e tempo de menopausa.



***MATERIAL E
MÉTODOS***

TIPO, POPULAÇÃO E LOCAL DE ESTUDO

O estudo, do tipo transversal, foi realizado entre dezembro de 1999 e agosto de 2001, sendo analisados os dados de 25 mulheres com diagnóstico clínico e laboratorial de menopausa natural, na faixa etária de 47 a 60 anos, portadoras de sobrepeso ou obesidade, na Unidade Metabólica do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

Métodos de convocação

As voluntárias procediam do ambulatório de menopausa do CAISM (a maioria), do Serviço de Saúde Pública de Paulínia e algumas nos procuraram espontaneamente, após conhecer o trabalho através de outras participantes. Os prontuários das possíveis voluntárias eram avaliados no ambulatório, a fim de verificar se atendiam aos critérios mínimos de seleção. Era também possível saber se estavam ou não em uso de TRH e qual a posologia e modo de administração destas medicações. Em seguida, apresentava-se o projeto às selecionadas nesta fase, fazendo-se o convite para a participação no estudo.

Crítérios de inclusão e exclusão

As voluntárias estudadas não deveriam ser sabidamente portadoras de doenças cardiovasculares, DM tipo 2, HAS e diagnóstico de neoplasia e não poderiam fazer uso de medicações que tivessem influência conhecida no metabolismo da glicose.

Posteriormente, foram excluídas da análise as participantes que se mantiveram com pressão arterial elevada durante o primeiro estudo e apresentaram controle ambulatorial também alterado, bem como aquelas cujo Teste de Tolerância Oral à Glicose foi compatível com Diabetes Mellitus tipo 2.

Subgrupos de estudo

As participantes foram distribuídas em dois grupos, sendo o primeiro constituído por aquelas que faziam uso de reposição hormonal combinada com estrógenos conjugados (0,625mg ao dia) e acetato de alfamedroxiprogesterona (5,0 mg ao dia)

continuamente, por via oral, denominado grupo “CASO” e o segundo por aquelas que não faziam uso de reposição hormonal, chamado “Controle”.

Aspectos éticos

Todas as voluntárias foram informadas previamente e concordaram com os procedimentos, assinando termo de consentimento. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade de Campinas.

Variáveis

Avaliou-se a sensibilidade à insulina, a tolerância à glicose e o gasto energético basal e estimulado por insulina. O estudo constou também de medidas antropométricas e de composição corporal, pressão arterial, frequência cardíaca e dosagens bioquímicas em sangue e urina, coletados em diferentes momentos.

Também foram colhidas informações como idade, antecedentes pessoais (tempo de obesidade, tabagismo, alcoolismo, medicações em uso), antecedentes ginecológicos (menarca, menopausa, paridade) e queixas atuais.

Protocolo experimental

As voluntárias compareceram em duas ocasiões na Unidade Metabólica, não havendo internação para a realização dos exames. No primeiro dia, eram submetidas ao Teste de Tolerância Oral à Glicose (OGTT) e no segundo ao *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, havendo um intervalo mínimo de sete dias entre os dois estudos.

Medidas Antropométricas

1- Descrição da padronização de medidas antropométricas (WHO, 1989)

A mensuração do peso foi feita com as voluntárias vestindo roupas leves e sem sapatos, utilizando-se balança da marca Welmy com precisão de 100g.

Para a medida da altura utilizou-se estadiômetro conectado à balança com divisão de 1mm, sendo o valor obtido arredondado para o centímetro mais próximo. A medição foi feita com a voluntária sem sapatos, de costas para o estadiômetro.

A circunferência da cintura foi medida no ponto mais estreito entre a última costela e a crista ilíaca, com fita métrica com escala milimétrica. Os valores encontrados foram arredondados para o centímetro mais próximo.

A circunferência do quadril foi determinada com fita métrica, na porção mais larga da região glútea, sendo arredondada para o centímetro mais próximo.

2- Avaliação da Composição Corporal

A avaliação da composição corporal foi feita através da bioimpedância elétrica, BIA, em aparelho da marca Byodinamics 310, após jejum mínimo de 4h e esvaziamento vesical por micção espontânea.

Avaliação da Pressão Arterial

A pressão arterial foi medida através de esfigmomanômetro padrão de mercúrio, após repouso mínimo de 15 minutos em decúbito dorsal. Quando o diâmetro do braço era maior que 30 cm, foram utilizadas braçadeira e *cuff* apropriados, ou seja, mais longos (RASTAM e colaboradores., 1990). Registrou-se a média de três aferições consecutivas. Foram considerados o primeiro e o último som de Korotkoff para as pressões sistólica e diastólica, respectivamente. Pressão arterial elevada foi definida como pressão sistólica maior que 140 mmHg ou pressão diastólica maior que 90 mmHg, de acordo com o VI JNC (SHEPS e colaboradores., 1998).

ESTUDOS

As participantes foram submetidas aos seguintes estudos experimentais:

1- Teste de Tolerância Oral à Glicose, OGTT

As voluntárias compareceram pela manhã, em jejum de pelo menos doze horas de alimentos e quatro horas de água. Os testes foram realizados em ambiente tranquilo com temperatura constante ao redor de 25 °C. A administração de 75 gramas de glicose (tempo zero) foi precedida por um período de duração variável chamado de período “basal do OGTT”. Após a ingestão de glicose, seguiu-se um período experimental de 120 minutos.

Antes de iniciarmos o estudo, a voluntária era orientada a esvaziar a bexiga e começávamos a contar o tempo (início do período basal). Preenchia-se uma ficha cadastral, verificava-se o peso e a altura e era realizada a BIA.

Em seguida, puncionava-se uma veia na região antecubital. A voluntária permanecia em repouso durante o experimento e eram aferidas por três vezes a pressão arterial e a frequência do pulso. Os batimentos do pulso eram contados por 30 segundos, multiplicando-se o valor obtido por dois. Aguardávamos de dez a quinze minutos após a punção venosa, para iniciarmos as aferições da pressão arterial e frequência do pulso. Nesta fase, era colhida uma amostra de sangue para dosagem de glicemia, insulina, creatinina, ácido úrico, sódio e potássio. Ao término do período basal, colhia-se outra amostra de sangue que chamamos de tempo zero, usada para as mesmas dosagens anteriores e também para hormônio folículo estimulante, estrógeno, hormônio tireo-estimulante, tiroxina livre e lipídeos.

A segunda parte do estudo constava da ingestão de 75 g de glicose diluídos em 300 ml de água, sendo oferecidos mais 100 ml de água. Este era considerado como tempo zero do Teste de Tolerância Oral à Glicose. A frequência cardíaca e a pressão arterial foram medidas do mesmo modo e pelo mesmo examinador, a cada trinta minutos.

2- *Clamp*

Em um segundo encontro, as voluntárias foram submetidas ao *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, cuja técnica foi inicialmente descrita por DEFRONZO e colaboradores., em 1979. As participantes eram orientadas a comparecer à Unidade Metabólica em jejum de alimentos por um período de 12 horas, com livre ingestão de água. Das 25 voluntárias estudadas, 18 foram submetidas ao *clamp*. Verificava-se novamente o peso, a voluntária esvaziava a bexiga, sendo o volume desprezado, anotando-se o tempo. Oferecíamos 200 ml de água e puncionávamos 2 veias periféricas com *abocath* 20GA ou 22GA, de preferência homolateral no membro superior, sendo uma próxima ao punho, na posição retrógrada e outra na região antecubital. Em cada *abocath* era fixada uma torneira de 3 vias. A mão onde foi puncionada a veia retrógrada era colocada numa caixa térmica com temperatura de 50°C, para diminuir a diferença artério-venosa (“arterialização” do sangue venoso, MC GUIRRE e colaboradores., 1976). O sistema era mantido permeável através da injeção de 2ml de solução de heparina (5000UI diluídas em 20ml de SF). Durante todo o experimento as amostras de sangue eram coletadas desta veia, sendo desprezados os 2 primeiros ml, por estarem diluídos com a solução de heparina.

Aguardávamos no mínimo 15 minutos para iniciar a calorimetria indireta, que era realizada por cerca de 30 minutos. Eram feitas três medidas da PA e do pulso neste tempo que chamamos de “basal do *clamp*”. O sangue era coletado para posteriores dosagens de glicose, insulina, uréia, creatinina, ácido úrico, Na e K.

Desligávamos o calorímetro e colhíamos a amostra de sangue do tempo zero. Era então coletada toda a diurese, sendo anotado o tempo decorrido desde a primeira micção, em minutos, para cálculo da eliminação urinária de nitrogênio.

Calculávamos a dose de insulina para obter uma administração endovenosa de $40\mu\text{UI}/\text{m}^2$ de superfície corporal/min. A insulina regular humana era colocada numa seringa de 50 ml contendo soro fisiológico e 3 ml de sangue da própria paciente, a fim de que o hormônio não aderisse na parede interna da seringa.

A participante era então novamente colocada em decúbito horizontal, com a mão da punção retrógrada colocada na caixa térmica. Conectávamos na torneira de 3 vias,

fixada na veia antecubital, a solução contendo a insulina regular numa e uma solução estéril de glicose a 10%. Esta última era conectada a uma bomba de infusão (AVI 270, 3M Health Care, USA) e a insulina era administrada através de bomba de infusão com precisão de frações decimais (AVI *syringe pump*, modelo 600, 3M Health Care, USA).

Iniciávamos então, o período experimental do *clamp*. De 0 a 4 minutos mantínhamos a infusão de insulina em 45,6 ml/h, correspondente a quatro vezes a velocidade de $40\mu\text{U}/\text{m}^2\text{SC}/\text{min}$. Aos 4 minutos, passávamos para 22,8 ml/h, correspondente a 2 vezes o valor calculado e por fim, a partir do sétimo minuto, passávamos à velocidade de 11,4 ml/h que seria constante até o fim do experimento.

A infusão de glicose era iniciada simultaneamente à de insulina. De 0 a 4 min usávamos uma velocidade para administrar 1,0 mg/kg/min; de 4 a 7 min 1,5 mg/kg/min e de 7 a 10 min 2,0 mg/kg/min. A partir deste tempo, esta dependeu dos valores das glicemias medidas a intervalos de três a cinco minutos, em amostras de 1 ml de sangue. O objetivo do ajuste da infusão era manter a glicemia o mais próximo possível da média das glicemias medidas no período basal.

Amostras maiores de sangue eram coletadas a cada 20 min, nos tempos 20, 40, 60, 80, 100 e 120 min para dosar Na e K em todas e insulina do tempo 60 a 120min. Medidas da pressão e frequência do pulso eram feitas nos tempos 60, 90 e 120 min. A calorimetria era repetida do tempo 80 min até o final da infusão de insulina. No tempo 120 minutos, interrompíamos a infusão insulínica e aumentávamos a infusão de glicose para duas vezes a daquele momento. Era então, novamente coletada a diurese e anotávamos o tempo decorrido desde a micção anterior e o volume medido.

Oferecíamos uma refeição geral para a paciente, e, durante a alimentação era iniciada a redução da infusão de glicose sempre para a metade do valor que estivesse sendo infundido, mantendo o controle através da glicemia. Este procedimento era mantido até que a glicemia estivesse estável, sem a necessidade de administração de glicose. Esta observação durava pelo menos uma hora.

MEDIDA DO GASTO ENERGÉTICO

As voluntárias foram submetidas à medida do gasto energético através da calorimetria indireta (FERANNINI e colaboradores. , 1987).

1- Descrição do Procedimento

A calorimetria indireta foi realizada no dia do *clamp*, em aparelho da marca Vmax Sensor Medics, modelo 29N, acoplado a uma *canopy*, durante cerca de 30 min no período basal e durante a infusão de insulina, do tempo 80 a 120 min. No decorrer da calorimetria, solicitou-se às voluntárias que permanecessem em silêncio e acordadas, a fim de evitar alterações respiratórias. Neste procedimento, avaliou-se o consumo de oxigênio (O₂) e a eliminação de gás carbônico (CO₂), através de medidas a cada minuto do O₂ e CO₂ inspirados e expirados, em litros por minuto e do volume do ar corrente. O aparelho foi programado para calcular a partir destas medidas primárias, o gasto energético em quilocalorias por dia e o quociente respiratório (QR). Foram consideradas as médias dos valores obtidos em *steady state*, prefixado como variações menores que 5% no QR e 10% no CO₂. Quando não se atingiu o *steady state*, considerou-se a média de todos os valores medidos, após a exclusão daqueles muito discrepantes. As medidas obtidas nos primeiros 5 min foram sistematicamente excluídas.

ESTOCAGEM DE AMOSTRAS

As amostras de sangue e urina coletadas, exceto aquelas para glicemia, foram colocadas imediatamente na geladeira e, ao término do estudo, foram centrifugadas a 4°C, no aparelho Centrifuge 5804 R (Alemanha), a 3.000 rpm, por 15 minutos, em média. Foram a seguir divididas em alíquotas e armazenadas em *freezer* a -20° C, até o dia da dosagem.

MÉTODOS ANALÍTICOS

As dosagens foram realizadas no laboratório da Unidade Metabólica (Ácido Úrico, Sódio, Potássio, Uréia, Creatinina, Colesterol Total e Frações e Insulina), no laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP (FSH, LH, TSH,

T4 livre e Estrógeno) e na Faculdade de Engenharia de Alimentos, FEA, (nitrogênio total na urina).

O controle de qualidade da bioquímica, realizada com *kit* da marca Wiener, foi feito com o *kit* Standatrol SE 2 níveis, também da marca Wiener, em todos os ensaios.

Ainda como controle de qualidade inter ensaios, foram repetidas dosagens de uma mesma amostra em diferentes ensaios, verificando-se se os resultados eram compatíveis.

Resumidamente, os exames foram realizados da seguinte forma:

1- Glicose plasmática

A glicose plasmática foi dosada em triplicata por técnica de oxidação de glicose em equipamento automatizado, *glucose analyser* da marca Beckman Instruments, Inc, modelo 6517.

2- Insulina plasmática

Dosada por radioimunoensaio, utilizou-se *Kit* Linco (USA). Este *Kit* tem reação cruzada com a pró-insulina menor que 2%. Valores de referência do kit (jejum): 42 – 243 pmol/l.

3- Sódio e potássio séricos (Na e K)

Utilizou-se aparelho Analisador de Eletrólitos, modelo 9180, fabricado por AVL Scientific Corporation USA. Valores de referência: Na : 135 – 145 mmol/l e K: 3,5 – 5,0 mmol/l.

4- Colesterol sérico

Utilizou-se para dosagem do colesterol sérico o método enzimático, realizado em equipamento automatizado COBAS MIRA PLUS ROCHE, com o *kit* para dosagem COLESTAT, marca Wiener (Argentina).

5- HDL colesterol sérico

O *kit* HDL colesterol reativo precipitante da marca Wiener foi usado para separação das lipoproteínas de alta densidade (HDL) em soro ou plasma. Posteriormente, o HDL foi dosado com o mesmo *kit* utilizado para dosagem do colesterol total. Valores de referência : Baixo <1,03 e alto $\geq 1,55$ mmol/l.

6- Triglicérides

Foi usado o método enzimático para dosagem de triglicérides no plasma, com o *kit* TG COLOR, marca Wiener, em espectrofotômetro marca Spectronic Instruments, modelo Genesys 5 (USA). Valores de referência: < 1,69 mmol/l.

7- Ácido úrico sérico

Utilizou-se o método enzimático para dosagem do ácido úrico sérico, no equipamento COBAS MIRA PLUS ROCHE com o *kit* para dosagem URICOSTAT enzimático, Wiener. Valores normais para mulheres: 80 – 350 μ mol/l.

8- Uréia urinária

Utilizou-se o Método de Berthelot modificado para a determinação de uréia em líquidos biológicos com o *kit* UREA COLOR 2 marca Wiener, em espectrofotômetro. Valores de referência do kit: 3,6 – 16 mmol/l.

9- Uréia plasmática

Utilizou-se o método cinético enzimático da “Urease U.V.” para a determinação de uréia em soro ou plasma com o *kit* UREA UV em espectrofotômetro. Valores de referência: 2,9 – 7,1 mmol/l.

10- T4 livre

Utilizou-se a técnica de radioimunoensaio com o *kit* GammaCoat T4 free (two step) RIA Kit, marca DiaSorin (USA) para a determinação quantitativa da taxa de tiroxina livre no soro. Valores de referência: 10 – 35 pmol/l.

11- TSH

Utilizou-se a técnica de radioimunoensaio com o *kit* GammaCoat hTSH IRMA Kit da marca DiaSorin (USA) para a determinação quantitativa do hormônio tireoestimulante no soro. Valores de referência: 0,4 – 6,0 mU/l.

12- Creatinina sérica

A dosagem de creatinina sérica foi feita pelo método de Jaffé modificado (ácido pícrico com hidróxido de sódio). Valores de referência: 50 – 100 µmol/l.

13- FSH

Utilizou-se para dosagem do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) a técnica de radioimunoensaio com o *kit* DSL-4700 ACTIVE™ FSH Coated-tube IRMA (USA). Valores de referência: sem reposição de estrógenos: 13,50 – 87,20 U/l e com reposição: 10,67 – 68,76U/l.

14- Estrógeno

Dosado através de radioimunoensaio com o *kit* Estradiol DSL-400 (USA). Valores de referência: sem reposição de estrógenos: 17 – 73 pmol/l e com reposição: 195 – 946 pmol/l.

15- Leptina

Utilizou-se para a dosagem de leptina o método de Radioimunoensaio (RIA). Valores de referência: mulher magra : 7,4 +/- 3,7 ng/ml.

CÁLCULOS E FÓRMULAS UTILIZADAS

1- Índice de Sensibilidade à insulina (M).

A sensibilidade à insulina foi medida pelo método do *clamp*, a partir de toda a glicose infundida do tempo 60 a 120 minutos do *clamp*. O valor obtido foi corrigido para as variações da glicemia, considerando-se o espaço da distribuição de glicose como 250 ml/kg de peso corporal (DEFRONZO e colaboradores, 1979).

2- Clearance de insulina

$CI_{Ins} = \text{Taxa de infusão de insulina} / \text{insulinemia SS} - (\text{insulinemia basal} \times 0,5)$ (ELAHI, 1982).

Onde SS: “steady state”, foi considerado o período experimental de 60 a 120min (portanto a média de 60-80-100 e 120min).

3- Liberação de insulina (IDR – do inglês *insulin delivery rate*) em jejum e durante o OGTT

$IDR_{bas} = \text{Clearance de insulina} \times \text{insulinemia de jejum}$ (COBELLI e colaboradores, 1986).

$IDR_{ins. OGTT} = \text{Clearance de insulina} \times \text{área sob a curva insulínica no OGTT}$ (COBELLI, 1986).

4- Secreção e sensibilidade à insulina estimadas pelos índices de HOMA (Homeostatic Model Assesment) (MATTHEUS e Colaboradores, 1985)

A secreção e a sensibilidade à insulina foram estimadas a partir da insulinemia e glicemia de jejum, utilizando as seguintes fórmulas:

HOMA β – para avaliar a secreção: $(20 \times I_0) / (G_0 - 3,5)$

HOMA IR – para avaliar a sensibilidade: $(I_0 \times G_0) / 22,5$

G_0 = glicemia de jejum (mmol/l) e I_0 = insulinemia de jejum (U/ml)

5- Área sob as curvas de glicose e insulina no OGTT

Utilizou-se o método de cálculo da área do trapézio, considerando-se toda a área sob as respectivas curvas. (POTTEIGER e colaboradores, 2002).

6- Colesterol LDL

Utilizou-se a fórmula de FRIEDEWALD e colaboradores, 1972.

LDL colesterol = colesterol total – (HDL colesterol + Triglicérides/5). Válida para valores de triglicérides menores que 400 mg/dl em indivíduos não portadores de lipoproteinemia do tipo III.

7- VLDL colesterol

Utilizou-se a fórmula de FRIEDWALD e colaboradores, 1972.

VLDL colesterol = triglicérides/5.

8- Gasto Energético

As fórmulas utilizadas foram baseadas na descrição de Ferraninni (FERRANNINI e colaboradores, 1988).

9- Equações da calorimetria indireta (FERRANNINI e colaboradores, 1988)

Padrão		
Oxidação Protêica (g/min)	=	6,25N
Oxidação de Glicose (g/min)	=	4,55VCO ₂ – 3,21VO ₂ – 2,87 N
Oxidação Lipídica (g/min)	=	1,67 (VO ₂ – VCO ₂) – 1,92 N
Gasto Calórico (Kcal/min)	=	3,91 VO ₂ + 1,10 VCO ₂ – 3,34 N

*N = taxa de excreção de nitrogênio urinário não protéico (g/min); VO₂ e VCO₂ estão expressos em l/min.

10- Índice de massa corporal (IMC)

Calculado pela divisão do peso em quilos pelo quadrado da altura em metros.

CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO

1- Tolerância à carboidratos

A tolerância aos carboidratos e o diagnóstico de diabetes para o jejum e durante o OGTT, foram definidos de acordo com os critérios revisados da *American Diabetes Association*, 1997.

Normal: glicemia de jejum < 6,1mmol/l

Intolerante à glicose: glicemia jejum $6,1 \leq$ glicemia $\leq 7,0$ mmol/l

Diabetes: glicemia de jejum $\geq 7,0$ mmol/l

No OGTT: normal: glicemia de duas horas < 7,7mmol/l

Intolerante: glicemia de duas horas entre 7,7 e 11,1mmol/l

Diabetes: glicemia de duas horas $\geq 11,1$ mmol/l

2- Valores de pressão arterial

Para a classificação quanto aos valores de pressão arterial foram aplicados os critérios do *Joint National Committee VI* (SHEPS e colaboradores, 1998).

3- Grau de obesidade

Para a classificação do grau de obesidade, utilizaram-se os critérios da WHO, 1989.

Eutrófico – $20 < \text{IMC} < 25 \text{kg/m}^2$;

Sobrepeso - $25 < \text{IMC} < 30 \text{kg/m}^2$;

Obesidade Grau I – $30 < \text{IMC} < 35 \text{kg/m}^2$;

Obesidade Grau II – $35 < \text{IMC} < 40 \text{kg/m}^2$;

Obesidade Grau III - $\geq 40 \text{kg/m}^2$.

4- Lipídeos

Utilizou-se a classificação do *Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*.

Col. Total (mmol/l)		LDL Colesterol (mmol/l)		Triglicérides	
		<2,59	ótimo		
< 5,18	desejável	2,59 - 3,34	quase ótimo	< 1,69	normal
5,18 - 6,19	limítrofe	3,36 - 4,11	limítrofe	1,69 - 2,25	levemente aumentado
$\geq 6,20$	alto	4,13 - 4,89	alto	2,26 - 5,63	Alto
		$\geq 4,91$	muito alto	$\geq 5,65$	Muito alto

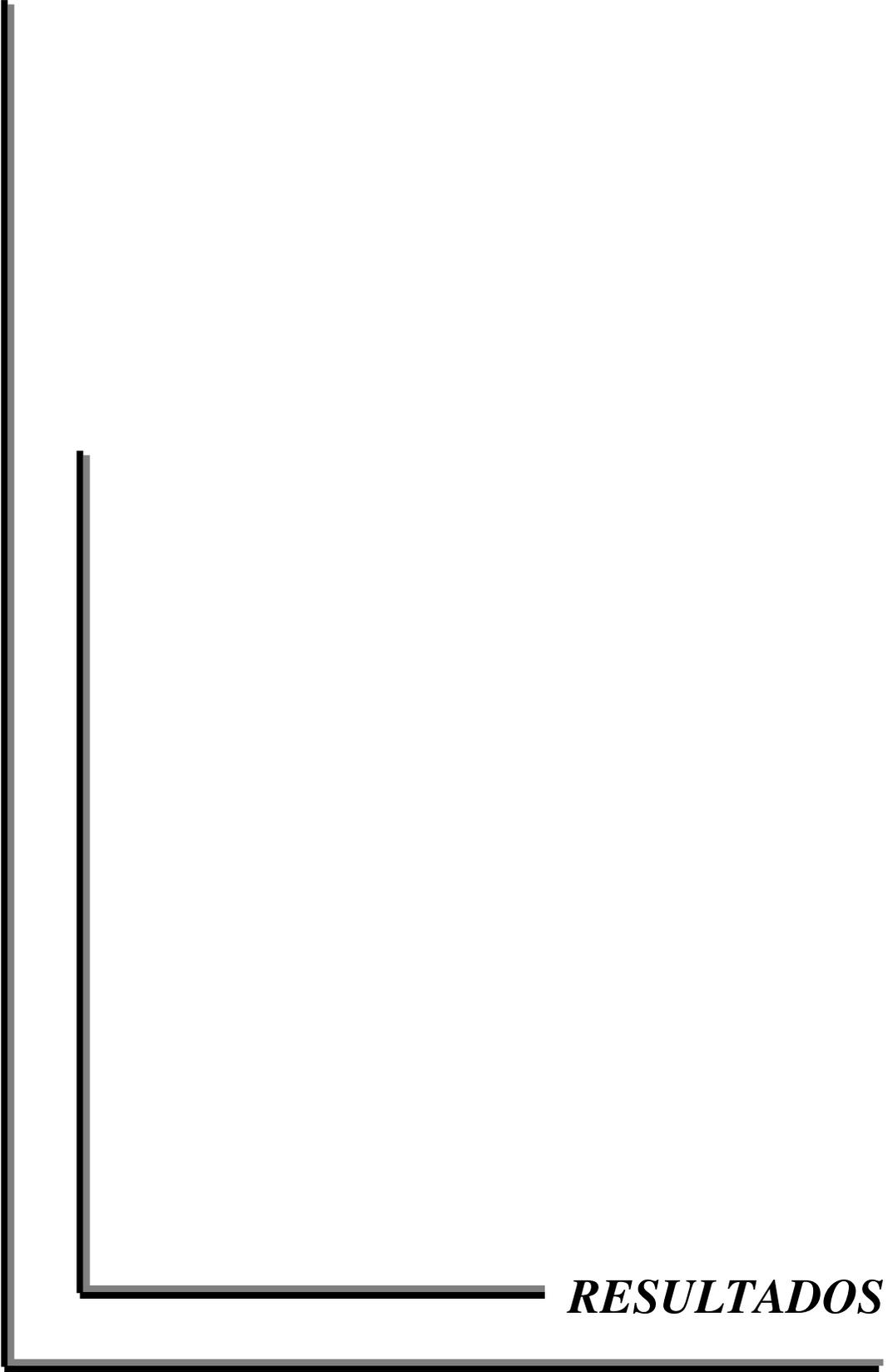
ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva de todas as variáveis obtidas e depois foram realizadas comparações intragrupos, entre os tempos e entre os grupos. A comparação entre grupos foi feita através do teste não paramétrico de Mann Whitney. A associação entre variáveis foi testada através de regressão linear simples, utilizando-se o *software* Statview®.

Os resultados foram revistos em conjunto pelo serviço de estatística da comissão de apoio à pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP: para a análise da relação de causa e efeito entre as variáveis de interesse, foi utilizada a Análise de Regressão Linear Múltipla, com critério *stepwise* de seleção de variáveis. O fator Grupo foi considerado como covariável, para efeito de correção no ajuste do modelo de regressão para as diferenças entre grupos. O programa utilizado pelo serviço de estatística foi *The SAS System for Windows (Statistical Analysis System)*, versão 8.01. SAS Institute Inc, 1999-2000, Cary, NC, USA.

Para a comparação de curvas entre os grupos foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, após transformação logarítmica dos resultados que não apresentavam distribuição normal. Consideraram-se os efeitos dos grupos (CASO e CT), dos tempos (basal *vs.* demais) e a da interação grupos *vs.* tempos. Para comparação dos grupos em cada tempo utilizou-se o teste de comparação múltipla de Duncan e para comparação dos valores entre os tempos foi utilizado o teste de perfil por contrastes.

Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão, exceto para as figuras, onde se utilizou a média e erro padrão.



RESULTADOS

Análise descritiva

As 25 voluntárias que constam desta análise foram agrupadas da seguinte forma: grupo CASO – n = 15 e grupo controle (CT) – n = 10. Seis das participantes não foram submetidas ao *clamp*: uma delas teve o estudo interrompido por obstrução da via de acesso para coleta de amostras; outra, apesar de ter níveis pressóricos normais no primeiro estudo, desenvolveu hipertensão arterial sistêmica e iniciou o uso de anti-hipertensivo no intervalo de tempo decorrido entre o primeiro e segundo estudos. Quatro participantes tiveram seus dados analisados em outro estudo na Unidade Metabólica e puderam fazer parte deste protocolo de pesquisa, por preencherem os critérios de inclusão, mas não foram submetidas ao *clamp* por dificuldade de convocação.

Características antropométricas e composição corporal

A Tabela 01 mostra o resultado de algumas variáveis que caracterizaram os grupos. Pode-se observar que apenas a cintura e a razão cintura/quadril foram significativamente maiores no grupo CT em relação ao CASO, apenas quando analisados os subgrupos submetidos ao *clamp*. Entre os dados apresentados, vale destacar alguns valores mínimos e máximos, já que os resultados são apresentados na tabela como média \pm desvio padrão:

IMC: de 26,7 a 33,5 kg/m² para o grupo CASO e 25,6 a 37,2 kg/m² para o CT

Cintura: 80 a 95 cm para o grupo CASO e 81 a 106 cm para o CT

Tempo de menopausa: de 3 a 18 anos para o grupo CASO e 1,6 a 18 para o CT

Tempo de reposição hormonal: 1,5 a 13 anos, apenas para o grupo CASO.

Quanto à composição corporal, os resultados obtidos através da bioimpedância elétrica são semelhantes entre os grupos, tanto para a gordura corporal em percentagem, que variou de 27,4 a 43,9 % no CT e de 29,7 a 43,8 % no CASO, como para a massa magra com valores de 36,2 a 51,3 kg no CT e 38,4 a 53,3 kg no CASO (tabela 02).

Tabela 1- Características antropométricas

	CASO		CT		p ₁	p ₂
	Com Clamp	Total	Com Clamp	Total		
Número	11	15	8	10		
Idade (a)	54,7 ± 4,7	55,6 ± 4,3	55,6 ± 3,0	54,9 ± 3,1	ns	ns
T menop (a)	8,4 ± 5,2	8,5 ± 4,6	9,0 ± 4,8	8,4 ± 4,8	ns	ns
T TRH (a)	5,8 ± 3,3	5,7 ± 2,9	-	-	-	-
Peso (kg)	71,3 ± 6,9	70,1 ± 6,3	69,9 ± 8,7	68,4 ± 8,4	ns	ns
Altura (cm)	157 ± 8	156 ± 7	152 ± 6	153 ± 6	ns	ns
IMC (kg/m ²)	29,1 ± 2,3	28,9 ± 2,2	30,6 ± 3,7	29,7 ± 3,7	ns	ns
C (cm)	87,1 ± 4,7	87,4 ± 4,9	93,8 ± 7,6	91,6 ± 8,2	0,05	0,16
C/Q	0,80 ± 0,06	0,82 ± 0,09	0,86 ± 0,06	0,87 ± 0,36	0,03	0,09

a: anos; T TRH: Tempo de utilização da TRH;

T menop: Tempo de menopausa;

C: cintura;

Valores de *p* obtidos através da análise não paramétrica de Mann Whitney para comparação entre os grupos CASO e CT: -

*p*₁ incluindo as participantes com *clamp* e

*p*₂ para a comparação entre todas as participantes.

Tabela 02 – Resultados da bioimpedância elétrica

	CASO		CT		<i>p</i> ₁	<i>p</i> ₂
	Com Clamp	Total	Com Clamp	Total		
Número	11	15	8	10		
G total %	34,6 ± 4,7	35,1 ± 4,3	36,3 ± 4,5	36,0 ± 4,1	ns	ns
G total (kg)	24,7 ± 4,3	24,7 ± 3,9	25,6 ± 2,1	24,8 ± 5,5	ns	ns
MM (kg)	46,5 ± 5,2	45,7 ± 4,9	44,4 ± 4,5	45,2 ± 6,5	ns	ns

G: Gordura;

MM: massa magra

Valores de *p* obtidos através da análise não paramétrica de Mann Whitney para comparação entre os grupos CASO e CT: -

*p*₁ incluindo todas as participantes e

*p*₂ apenas para as participantes submetidas ao *clamp*.

Tabela 03 – Lipidograma e ácido úrico

	CASO	CT	<i>p</i>
Col Total (mmol/l)	5,11 ± 0,66	5,50 ± 1,20	ns
Col HDL (mmol/l)	1,01 ± 0,19	1,03 ± 0,19	ns
Col LDL (mmol/l)	3,40 ± 0,68	3,82 ± 1,08	ns
Triglicerídeos (mmol/l)	1,41 ± 0,48	1,43 ± 0,73	ns
Ácido Úrico (μmol/l)	303 ± 59	333 ± 62	0,07

Valores de *p* para comparação entre grupos, através da análise não paramétrica de Mann Whitney

Resultados do lipidograma e uricemia

O perfil lipídico das pacientes está relacionado na Tabela 03. Houve uma tendência a maiores uricemias no grupo controle, obtendo-se $p = 0,07$ vs. CASO. Apresentaram uricemia considerada elevada ($>350 \mu\text{mol/l}$) quatro mulheres do grupo CASO e sete do CT. Os triglicérides e o colesterol total, LDL e HDL não diferiram estatisticamente entre os grupos. Seis voluntárias de cada grupo apresentavam valores de colesterol total considerado de risco, enquanto apenas uma de cada grupo apresentou triglicérides maiores que $1,65 \text{ mmol/l}$. HDL $< 0,91 \text{ mmol/l}$ foi observado em seis e quatro voluntárias dos grupos CASO e CT, respectivamente.

Perfil hormonal

Em relação ao perfil hormonal, foram dosados TSH, T4L, FSH e estrógeno. Os valores deste último foram significativamente maiores nas voluntárias com reposição hormonal ($310,2 \pm 189,1$ vs. $98,8 \pm 34,9 \text{ pmol/l}$; $p = 0,003$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para os demais hormônios, inclusive para a leptina plasmática que variou de 12 a 31 ng/ml em CT e de 9 a 26 ng/ml em CASO. Apenas dois componentes do grupo CASO tiveram leptinemia compatível com os valores encontrados em mulheres magras (Tabela 04).

Tabela 04 – Dosagens hormonais

	CASO	CT	<i>p</i>
TSH (mU/l)	2,0 ± 0,7	2,2 ± 1,1	ns
T4 livre (pmol/l)	17,6 ± 1,9	16,3 ± 2,6	ns
FSH (U/l)	25,2 ± 8,0	41,6 ± 20,3	ns
Estrógeno (pmol/l)	310,2 ± 189,1	98,8 ± 34,9	0,003
Leptina (ng/ml)	17,8 ± 4,7	21,1 ± 6,8	ns

Valores de *p* para comparação entre grupos através da análise não paramétrica de Mann Whitney

Resultados do OGTT

Na Tabela 05, são mostrados os resultados da glicemia e insulinemia e os cálculos derivados destas medidas durante o OGTT. Encontramos diferença estatisticamente significativa entre as áreas sob a curva de glicose, que foi maior no grupo controle. A insulina de jejum, IDR_{OGTT}, mais altos no CT, não diferiram estatisticamente entre os grupos. Houve tendência à significância estatística ($p = 0,08$) na comparação das áreas sob a curva de insulina entre os grupos. A representação das ASC e as curvas de glicose e insulina se encontram na Figura 01. ANOVA para medidas repetidas revelou efeito grupo ($p=0,03$) e o teste de Duncan evidenciou diferenças ($p < 0,05$ - CT vs. CASO) na glicemia do tempo 60min do OGTT. Para a insulinemia, a comparação entre os grupos resultou em diferença marginal ($p=0,08$), com variação no tempo ($p < 0,0001$), sem interação entre ambos.

A Tabela 06 mostra o comportamento da pressão arterial e frequência cardíaca durante o OGTT e também a comparação entre as curvas destas variáveis. Pode-se notar que as pequenas diminuições da PAS, PAD e PAM, bem como os pequenos aumentos da FC que ocorreram após a ingestão de glicose, foram semelhantes entre os grupos e estatisticamente significativos em relação ao período basal (ANOVA para medidas repetidas).

Tabela 05 – Resultados do OGTT

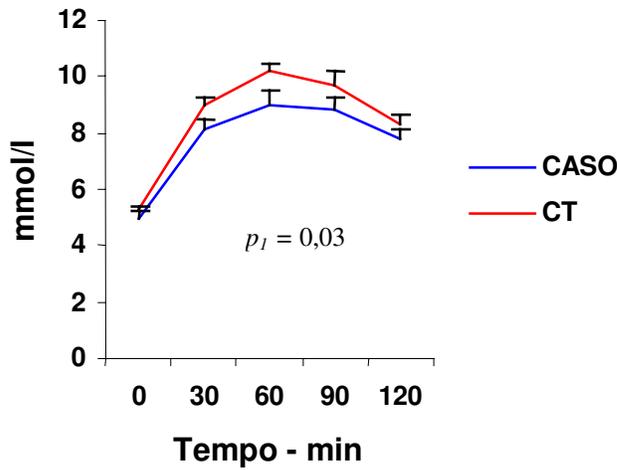
	CASO	CT	<i>p</i>
Glic jejum (mmol/l)	5,0 ± 0,4	5,3 ± 0,6	ns
Ins jejum (pmol/l)	88,2 ± 38,4	120,6 ± 55,1	ns
ASC glicemia (mmol/l.2h)	971 ± 120	1083 ± 115	0,04
ASC insulina (pmol/l.2h)	10885 ± 4174	13482 ± 4491	0,08
IDR _{OGTT} (mmol/2h)	49,7 ± 14,7	63,3 ± 24,1	ns
HOMA IR	2,64 ± 1,28	3,34 ± 1,27	ns
HOMA β	162 ± 64	161 ± 53	ns

Valores de *p* para comparação entre grupos através da análise não paramétrica de Mann Whitney.

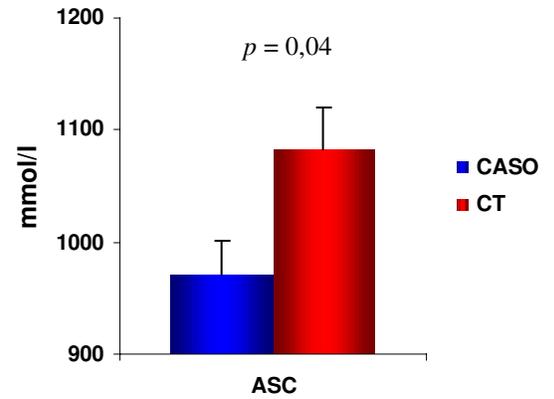
IDR_{OGTT} – (*Insulin delivery rate*) – taxa de liberação de insulina durante o OGTT.

ASC – área sob a curva.

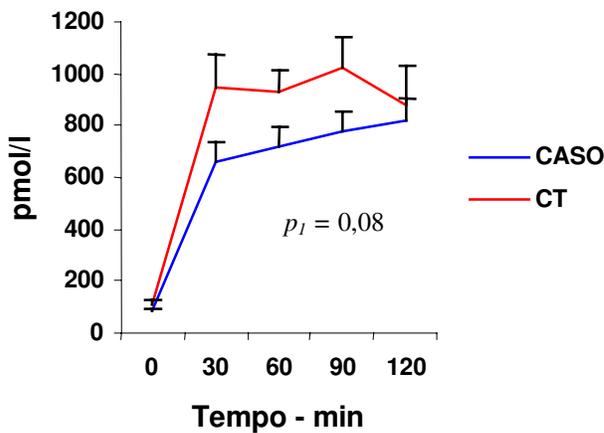
Glicemias OGTT



Área sob curva - glicemia



Insulinas OGTT



Área sob curva - insulina

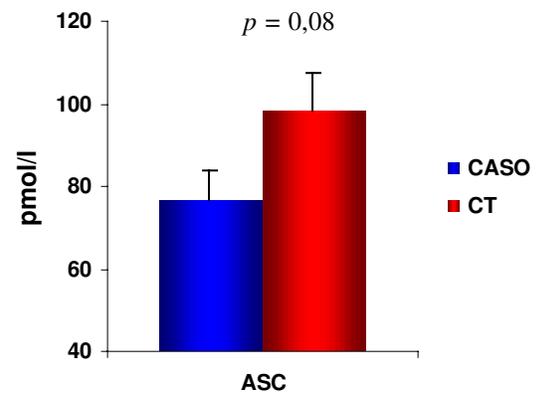


Figura 01 – Curvas glicêmicas e insulinêmicas e áreas sob as curvas correspondentes

p_1 - CASO vs. CT (ANOVA para medidas repetidas)

p - CASO vs. CT (análise de Mann Whitney)

Tabela 06 - Comportamento da PA e FC no OGTT

	CASO	CT	p^1	p^2	p^3
PAS bas	133,8 ± 15,8	126,5 ± 15,5	ns	0,04	ns
PAS OGTT	130,5 ± 16,5	123,4 ± 15,1			
PAD bas	83,2 ± 9,1	80,4 ± 6,9	ns	< 0,0001	ns
PAD OGTT	79,8 ± 6,8	75,4 ± 6,3			
PAM bas	100,0 ± 10,7	95,8 ± 9,5	ns	0,0007	ns
PAM OGT	96,7 ± 9,3	91,4 ± 8,4			
FC bas	64,8 ± 7,0	64,1 ± 7,1	ns	< 0,0001	ns
FC OGTT	70,9 ± 6,6	70,9 ± 8,5			

Valores de p obtidos na ANOVA para medidas repetidas:

p^1 – comparação entre grupos;

p^2 – comparação no tempo;

p^3 – interação grupo/tempo.

Resultados do *clamp* e da calorimetria

Durante todo o período experimental do *clamp*, os valores glicêmicos se mantiveram estáveis, com variações menores que 10% em relação à glicemia basal (Figura 02). A infusão de insulina elevou seus níveis plasmáticos para valores ao redor de 800pmol/l, sem diferença entre os grupos. Estes resultados e o *clearance* de insulina são mostrados na Tabela 07 . A sensibilidade à insulina, medida pela quantidade de glicose infundida, foi ajustada pelo peso corporal ou pela massa magra e pela média da insulinemia dosada entre os tempos 80 a 120 min. As médias dos grupos com qualquer destas correções, bem como a faixa de variabilidade (M - 13 a 38 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{min}$ para CT e de 10 a 33 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{min}$ no grupo CASO) foram semelhantes. As comparações entre as curvas de glicemia, insulinemia e M realizadas, não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Figura 02).

A infusão de insulina aumentou significativamente o quociente respiratório, conforme se observa na comparação entre a calorimetria realizada antes e durante o *clamp* (Tabela 08). O gasto energético induzido pela glicose, TIG, (diferença entre o gasto calórico no período *steady state* e o período basal) foi de pequena magnitude, não significativo e semelhante entre os 2 grupos (Figura 03).

Tabela 07 - Resultados do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico

	CASO	CT	p^1	p^2	p^3
Glic basal (mmol/l)	5,3 ± 0,4	5,4 ± 0,7			
Glic SS (mmol/l)	5,4 ± 0,5	5,5 ± 0,7	ns	ns	ns
Insulina jejum (pmol/l)	109,7 ± 28,9	138,1 ± 47,2			
Insulina SS (pmol/l)	744,0 ± 118,5	803,0 ± 175,8	ns	<0,0001	ns
IDR _{jejum} (pmol/min)	75,3 ± 19,0	77,3 ± 25,0	ns ^a		
Clearance Insulina (ml/min)	731 ± 124	677 ± 153	ns ^a		
Clearance Insulina /SC*	426 ± 66	409 ± 98	ns ^a		
M (μmol/kg.min)	21,8 ± 8,4	21,1 ± 8,5	ns ^a		
M /MM (μmol/kgMM.min)	33,2 ± 11,8	32,5 ± 11,3	ns ^a		
M / MM / Ins	46,2 ± 19,8	44,2 ± 25,4	ns ^a		

Valores de p obtidos na ANOVA para medidas repetidas:

p^1 – comparação entre grupos;

p^2 – comparação no tempo;

p^3 – interação grupo/tempo.

^a – valor de p para comparação entre grupos através da análise não paramétrica de Mann Whitney.

IDR jejum – *insulin delivery rate* - liberação de insulina durante o jejum.;

M – captação total de glicose; MM – massa magra; M / MM / Ins – M corrigido pela mm e insulinemia durante o *steady state* - μmol/kgmm.min/nmol/l.

***unidade: ml/min.m².**

Taxa de Infusão de glicose

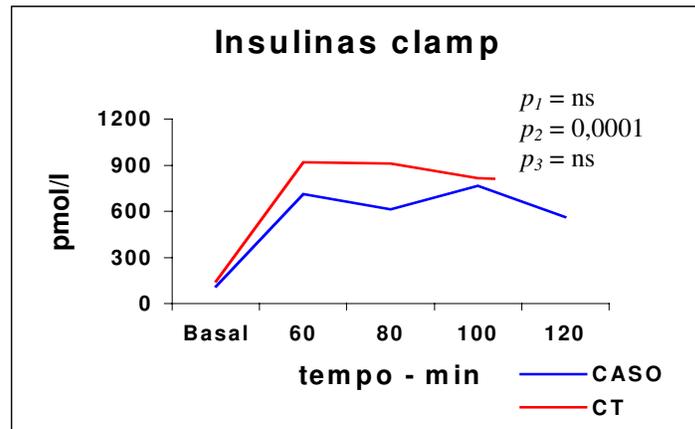
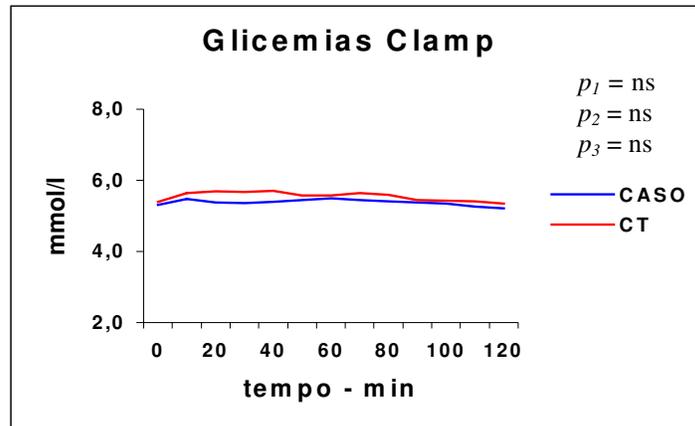
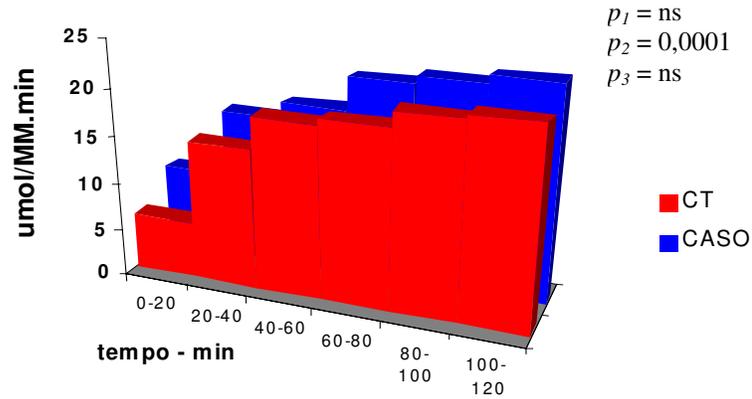


Figura 02 – Taxa de infusão de glicose, glicemia e insulinemia durante o clamp

p_1 - comparação entre grupos;

p_2 - comparação entre tempos;

p_3 - interação grupo/tempo (ANOVA para medidas repetidas)

Tabela 08 - Resultados da calorimetria – gasto energético e quociente respiratório

	CASO	CT	P^1	P^2	P^3
QR bas	0,78 ± 0,05	0,80 ± 0,06			
QR SS	0,82 ± 0,09	0,82 ± 0,04	ns	0,05	ns
G E bas (Kcal/d)	1487 ± 92	1393 ± 227			
G E SS (Kcal/d)	1498 ± 112	1429 ± 244	ns	ns	ns
G E bas/kg (Kcal/kg.d)	21,1 ± 2,8	20,0 ± 2,7			
G E SS/kg (Kcal/kg.d)	21,2 ± 2,6	20,5 ± 2,8	ns	ns	ns
GE bas (Kcal/kg MM.d)	32,4 ± 4,7	31,2 ± 2,9			
GE SS (Kcal/kg MM.d)	32,5 ± 4,3	32,0 ± 2,8	ns	ns	ns
TIG cal/d	11 ± 87	37 ± 95	ns ^a		
TIG % ^b	1,55 ± 5,7	1,77 ± 6,9	ns ^a		

QR – coeficiente respiratório; SS – steady state; GE – gasto energético, TIG – gasto energético induzido pela glicose;

Valores de p obtidos na ANOVA para medidas repetidas:

p^1 – comparação entre grupos;

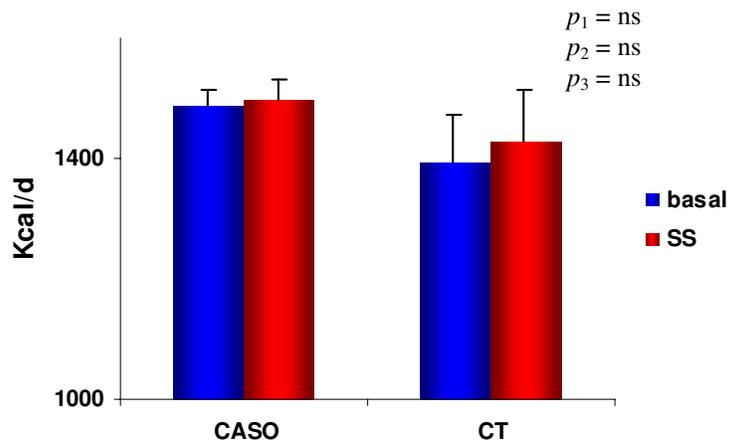
p^2 - comparação no tempo;

p^3 – interação grupo/tempo.

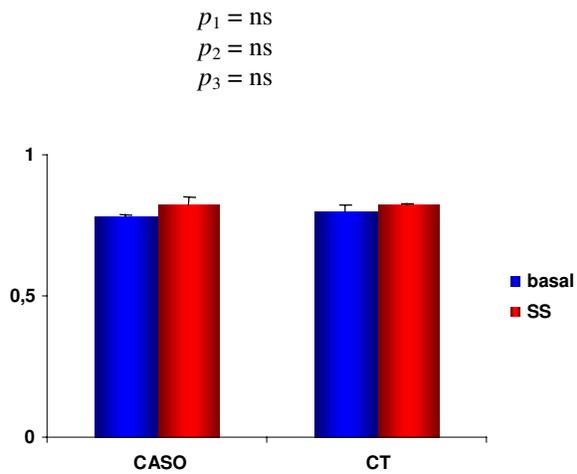
^a valor de p para comparação entre grupos através da análise não paramétrica MannWhitney.

^b - valores expressos em mediana mais ou menos desvio padrão.

Gasto energético



Quociente respiratório



Termogênese induzida pela glicose

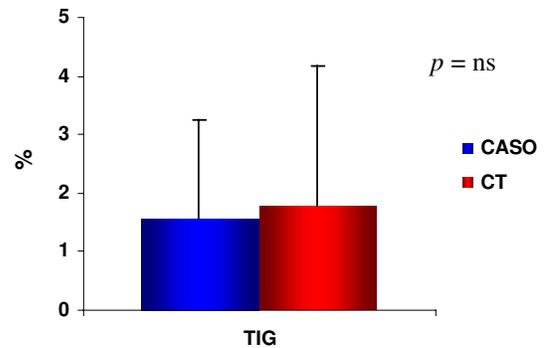


Figura 03 – Resultados da calorimetria durante os períodos basal e *steady state* do *clamp*, em ambos os grupos.

p_1 – comparação entre grupos;

p_2 – comparação entre tempos;

p_3 – interação grupo/tempo

Utilização de substratos

Quanto à utilização de substratos: os valores basais de oxidação dos diferentes substratos eram semelhantes entre os grupos e observamos aumento significativo da oxidação de glicose no período experimental do *clamp* vs. período basal, tanto nas voluntárias sob TRH como no grupo CT ($p = 0,004$; ANOVA para medidas repetidas, após transformação logarítmica dos valores). A utilização não oxidativa de glicose sob ação insulínica foi similar entre os grupos estudados. A redução da oxidação lipídica, durante o *clamp*, foi estatisticamente significativa, com $p < 0,0001$. Ao contrário, a oxidação protéica não se modificou (Tabela 09 e Figura 04).

Quanto aos valores pressóricos e frequência cardíaca medidos durante o *clamp*, ocorreram reduções estatisticamente significativas da média das medidas da PAD do tempo basal para o *SS* ($p = 0,02$), enquanto houve uma tendência a aumento da FC ($p = 0,07$). Entretanto, quando foi analisado o comportamento das curvas destas variáveis, observou-se uma significância marginal para o efeito tempo apenas para a PAD (Tabela 10).

Em relação aos eletrólitos, observaram-se diferenças estatisticamente significativas no tempo (basal vs. *clamp*) tanto para o sódio quanto para o potássio, sendo mais evidenciada neste último. A variação de Na e K durante o *clamp* se encontra na Tabela 11 e na Figura 05.

Tabela 09 - Utilização de substratos

	CASO	CT	p^1	p^2	P^3
Ox glic bas	7,4 ± 5,2	9,7 ± 5,6			
Ox glic SS	11,5 ± 8,9	11,4 ± 4,1	ns	0,03	ns
Utilização NOG	22,5 ± 11,4	22,0 ± 11,4	ns*		
Ox prot bas	7,0 ± 2,5	6,4 ± 2,1			
Ox prot SS	6,2 ± 2,2	5,5 ± 1,3	ns	ns	ns
Ox lip bas	6,1 ± 2,3	5,3 ± 2,0			
Ox lip SS	3,7 ± 1,4	3,2 ± 1,4	ns	<0,0001	ns

Todas as variáveis - $\mu\text{mol}/\text{min}.\text{kg mm}$.

Valores de p obtidos na ANOVA para medidas repetidas, após transformação logarítmica dos valores:

p^1 – comparação entre grupos;

p^2 – comparação no tempo;

p^3 – interação grupo/tempo.

* comparação entre grupos utilizando-se a análise estatística Mann Whitney

Tabela 10 - Resultados da pressão arterial e da frequência cardíaca durante o *clamp*

	CASO	CT	p^1	p^2	p^3
PAS bas	127,8 ± 17,1	122,2 ± 16,3			
PAS SS	131,5 ± 12,4	121,8 ± 14,6	ns	ns	ns
PAD bas	83,5 ± 8,5	81,0 ± 9,1			
PAD SS	82,1 ± 7,3	77,44 ± 8,6	ns	0,02	ns
PAM bas	98,3 ± 10,6	98,5 ± 8,2			
PAM SS	94,7 ± 11,3	92,2 ± 10,1	ns	ns	ns
FC bas	64,9 ± 7,4	64,2 ± 6,6			
FC SS	67,2 ± 5,3	67,11 ± 7,2	ns	0,07	ns

Pressões em mmHg e FC em bpm;

SS – *Steady State*.

Valores de p obtidos na ANOVA para medidas repetidas:

p^1 – comparação entre grupos;

p^2 – comparação no tempo;

p^3 – interação grupo/tempo.

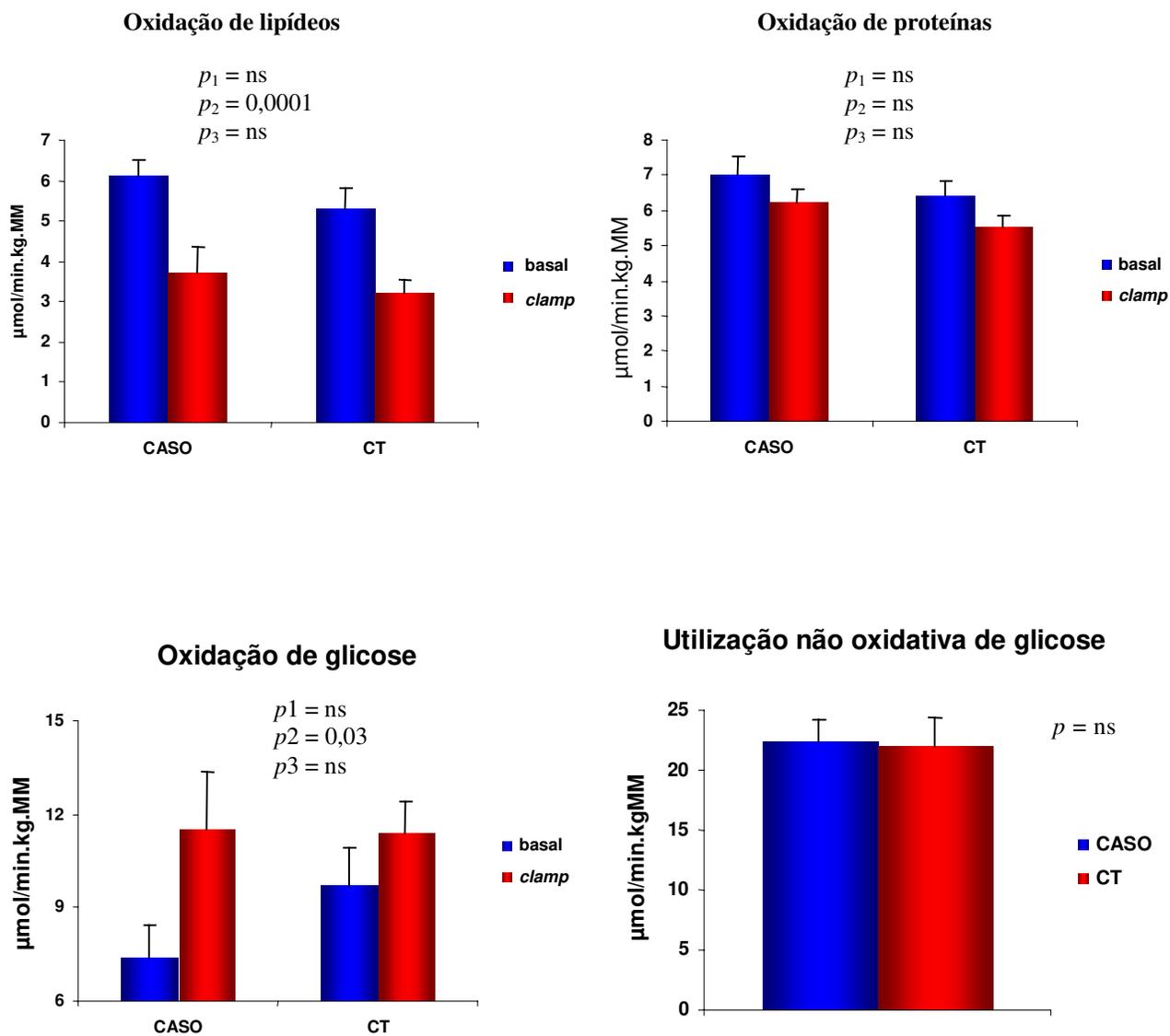


Figura 04 – Utilização de substratos durante os períodos basal e steady state do clamp, em ambos os grupos.

p_1 – comparação entre grupos;

p_2 – comparação entre tempos;

p_3 – interação grupo/tempo (ANOVA para medidas repetidas)

Tabela 11 - Modificação dos eletrólitos durante o *clamp*

	CASO	CT	p^1	p^2	p^3
Na basal	138,6 ± 2,9	139,2 ± 4,8			
Na SS	137,1 ± 2,6	138,7 ± 4,6	ns	0,03	ns
K basal	4,3 ± 0,3	4,5 ± 0,4			
K SS	3,6 ± 0,2	3,7 ± 0,3	ns	< 0,0001	0,05

Valores de p obtidos na ANOVA para medidas repetidas:

p^1 – comparação entre grupos;

p^2 – comparação no tempo;

p^3 – interação grupo/tempo.

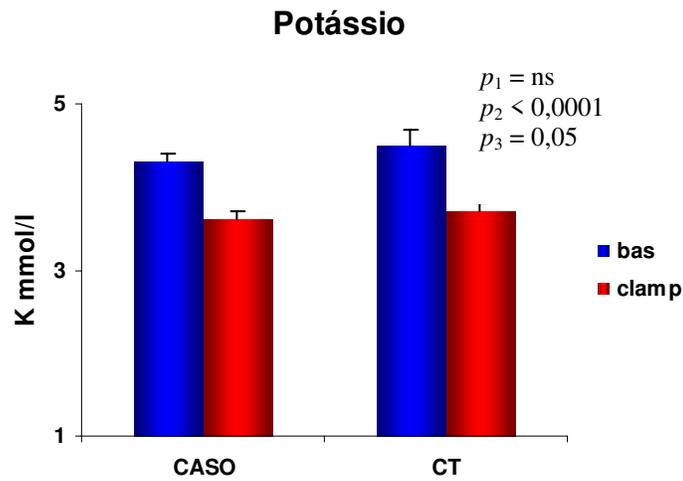
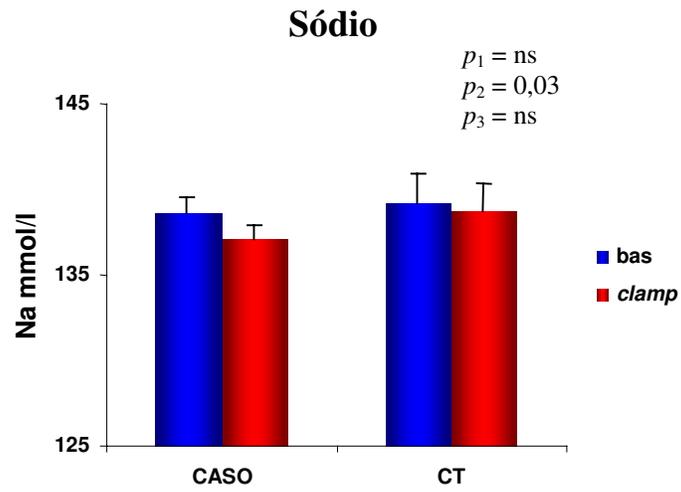


Figura 05- Resultados do sódio e potássio durante o *clamp* p_1 - comparação entre grupos;
 p_2 - comparação entre tempos;
 p_3 - interação grupos/tempos (ANOVA para medidas repetidas)

Análises de correlação entre as variáveis

1- Correlação entre variáveis – regressão linear simples.

Em função da similaridade de resultados dos grupos e do número de seus componentes, estes foram agrupados para a análise da relação entre as variáveis antropométricas e metabólicas. A correlação entre variáveis foi feita através de regressão linear simples. Maiores valores de IMC foram associados diretamente com a glicemia e insulinemia de jejum e com IDR_{OGTT} ($r = 0,55; 0,51; 0,53$, todos $p < 0,05$) e com a uricemia ($r = 0,44; p = 0,06$). A sensibilidade à insulina, ao contrário, foi relacionada inversamente com o IMC, gordura corporal percentual e cintura ($r = -0,54; -0,57; -0,48; p < 0,05$). Correlações de menor significância foram observadas entre estas variáveis metabólicas e a gordura corporal percentual. A leptinemia também foi diretamente proporcional ao IMC, à cintura e gordura corporal percentual ($r = 0,68; 0,55; 0,58; p < 0,05$). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 12.

Entre as variáveis metabólicas foram evidenciadas relações indiretas entre M e insulinemia no jejum e no OGTT, esta última representada como área sob a curva de insulina ou IDR_{OGTT} . A insulinemia de jejum, por sua vez, foi relacionada diretamente às áreas insulinêmica e glicêmica. O índice HOMA IR, que estima a sensibilidade à insulina, foi inversamente correlacionado com o M ($r = -0,48; p = 0,04$) e diretamente às medidas de insulinemia (Tabela 13).

Para melhor visualização da distribuição das variáveis, são apresentados alguns gráficos de regressão linear simples (Figura 06).

Tabela 12 – Relação entre diversas variáveis no grupo inteiro

Variáveis Independentes	IMC (kg/m²)		Gordura %		Cintura	
→						
Dependentes ↓	r	p	r	p	r	p
M (μmol 80 – 120)	- 0,54	0,02	- 0,57	0,01	-0,52	0,02
Glic basal OGTT	0,46	0,02	0,28	0,18	0,49	0,01
Ins basal OGTT	0,45	0,02	0,25	0,24	0,58	0,003
Ác úrico basal	0,26	0,21	0,39	0,06	0,24	0,25
Triglicerídeos	0,19	0,37	-0,10	ns	0,22	ns
TSH	0,46	0,06	0,19	ns	0,40	0,11
T4 livre	0,00	ns	-0,32	0,17	0,06	ns
GE total basal	0,10	ns	-0,17	ns	-0,18	ns
IDR OGTT	0,53	0,02	0,51	0,02	0,53	0,02
TIG	0,45	ns	-0,09	ns	0,01	ns
Variação (%) do K	0,31	0,20	0,09	ns	0,23	ns
HOMA β	-0,03	ns	-0,22	ns	0,22	0,30
HOMA IR	0,53	0,006	0,22	0,30	0,55	0,004
Leptina	0,67	0,002	0,60	0,008	0,55	0,02

TIG – Termogênese induzida pela glicose.

r e p – obtidos através de análise de regressão linear simples.

Tabela 13 - Relação entre diversas variáveis no grupo inteiro

Independentes →	M 80-120 ($\mu\text{mol/kg.min}$)		Insulina basal		Área insulinêmica		Área glicêmica	
	r	p	r	p	r	p	r	P
Dependentes ↓								
M	-	-	-0,53	0,02	-0,66	0,002	-0,32	0,19
Gli bas OGTT	- 0,03	ns	0,39	0,05	0,23	0,27	0,51	0,01
Ins bas OGTT	- 0,53	0,02	-	-	0,58	0,003	0,26	0,20
Ác úrico bas	- 0,23	ns	-0,15	ns	0,15	ns	0,14	ns
Trig	- 0,12	ns	0,19	ns	0,07	ns	0,26	0,23
TSH	0,24	ns	0,35	0,17	0,05	ns	0,31	0,24
T4 livre	- 0,003	ns	0,13	ns	-0,16	ns	0,26	0,26
GE total bas	0,09	ns	0,07	ns	-0,23	ns	0,40	0,09
IDR OGTT	- 0,47	0,04	0,65	0,002	0,85	<0,0001	0,12	ns
TIG	0,13	ns	-0,06	ns	-0,08	ns	0,002	ns
Var (%) do K	- 0,16	ns	0,26	0,28	0,33	0,17	-0,007	ns
HOMA β	- 0,36	ns	0,47	0,02	0,23	0,26	-0,05	ns
HOMA IR	- 0,41	0,08	0,95	<0,0001	0,55	0,004	0,35	0,09
Leptina	- 0,11	ns	0,06	ns	0,47	0,05	0,22	ns

TIG – Termogênese induzida pela glicose.

r e p – obtidos através de análise de regressão linear simples.

2- Correlação entre variáveis - Regressão Linear Múltipla (com stepwise)

O modelo para a análise da Regressão Linear Múltipla, com critério *stepwise* de seleção de variáveis utilizou como variáveis independentes IMC (log.), Cintura, C/Q, Gordura %, Massa Magra, Gordura (kg) e M normalizado pelo peso corporal. O fator grupo foi considerado como covariável, para efeito de correção, no ajuste do modelo de regressão das diferenças entre os grupos. Permaneceram no modelo as variáveis relacionadas na Tabela 14. Pode-se notar que o IMC, a cintura e o valor de M foram as mais importantes para as variáveis resposta estudadas. Para as variáveis gasto calórico basal, TIG, colesterol LDL, triglicérides, ácido úrico, T4 livre e variação % do K durante o *clamp*, nenhuma variável permaneceu estatisticamente significativa no modelo.

Utilizou-se o mesmo conjunto de variáveis acima para avaliar os principais determinantes da leptinemia. O melhor ajuste do modelo foi obtido com as variáveis cintura, gordura corporal em percentagem e M/kg de peso ($r^2 = 0,80$ e $p = 0,0002$).

Tabela 14 – Resultado da regressão linear múltipla com critério de seleção *stepwise* das variáveis

Variáveis resposta	Variáveis selecionadas	<i>p</i>	múltiplo r^2
↑ M 80 – 120	↓ Cintura	0,003	0,48
↑ Gli bas	↑ IMC	0,003	0,47
↑ ASC gli	↓ Gord %	0,005	0,80
	↑ IMC	0,001	
	↓ MM	0,01	
	↑ gordura (kg)	0,02	
↑ Ins bas *	↑ IMC	0,003	0,58
	↓ gordura (kg)	0,04	
↑ ASC Ins	↓ M	0,001	0,64
↑ IDR	↓ M	0,01	0,45
↑ HOMA IR	↑ Cintura	0,01	0,46
↑ HOMA β	↑ C/Q	0,05	0,28
↑ HDL	↓ M	0,03	0,30
↑ TSH	↑ IMC	0,004	0,56
	↑ M	0,02	

* - após transformação logarítmica

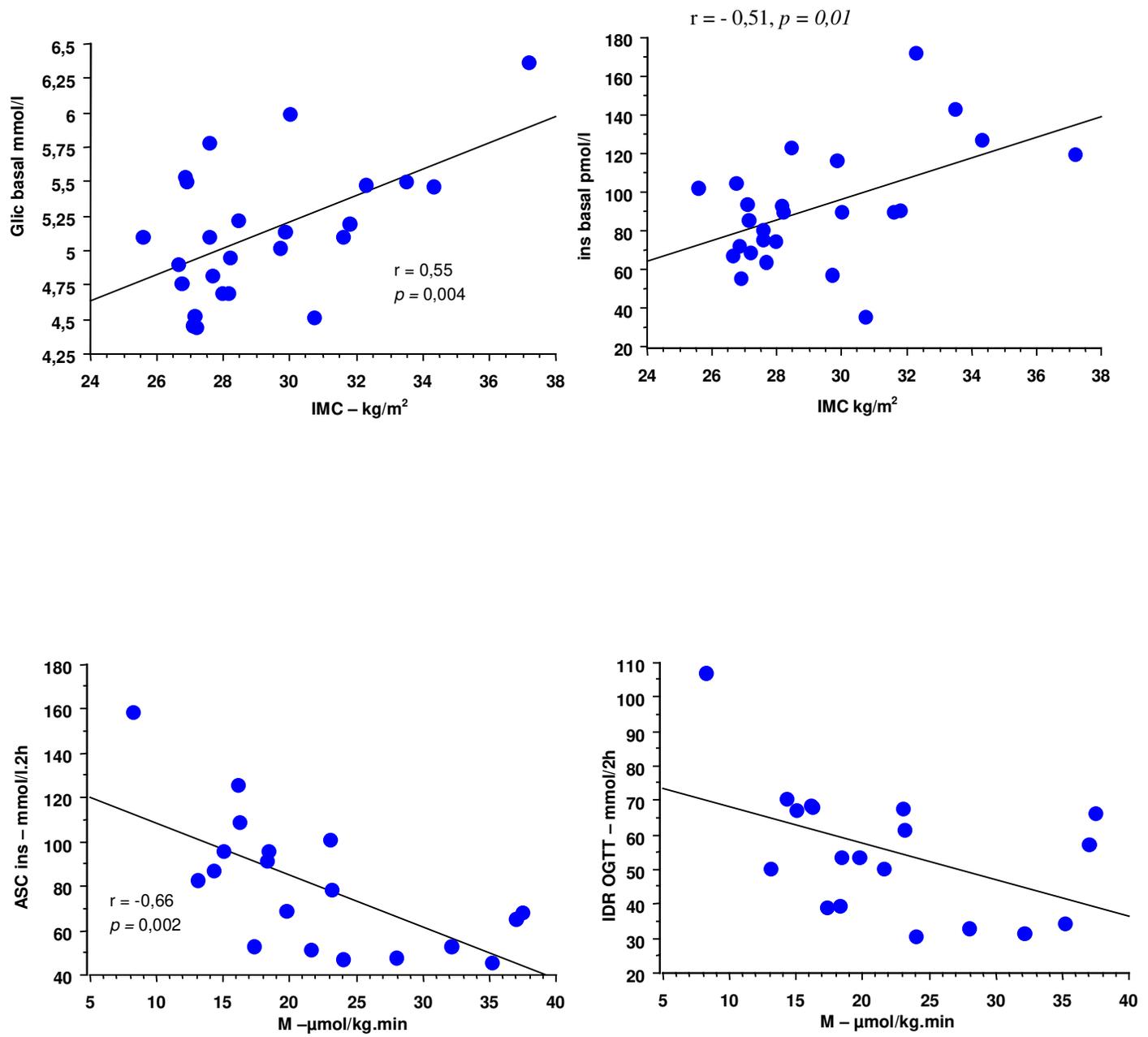


Figura 06 – Correlações lineares simples

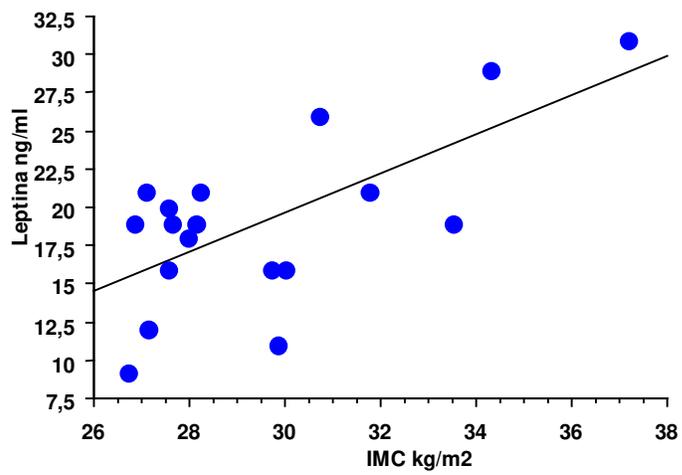
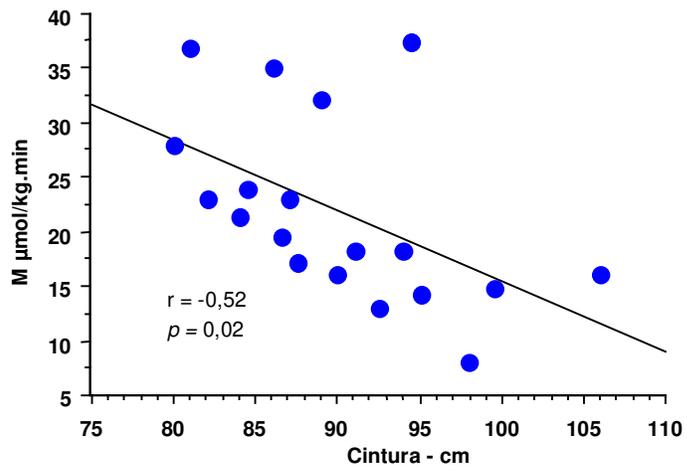
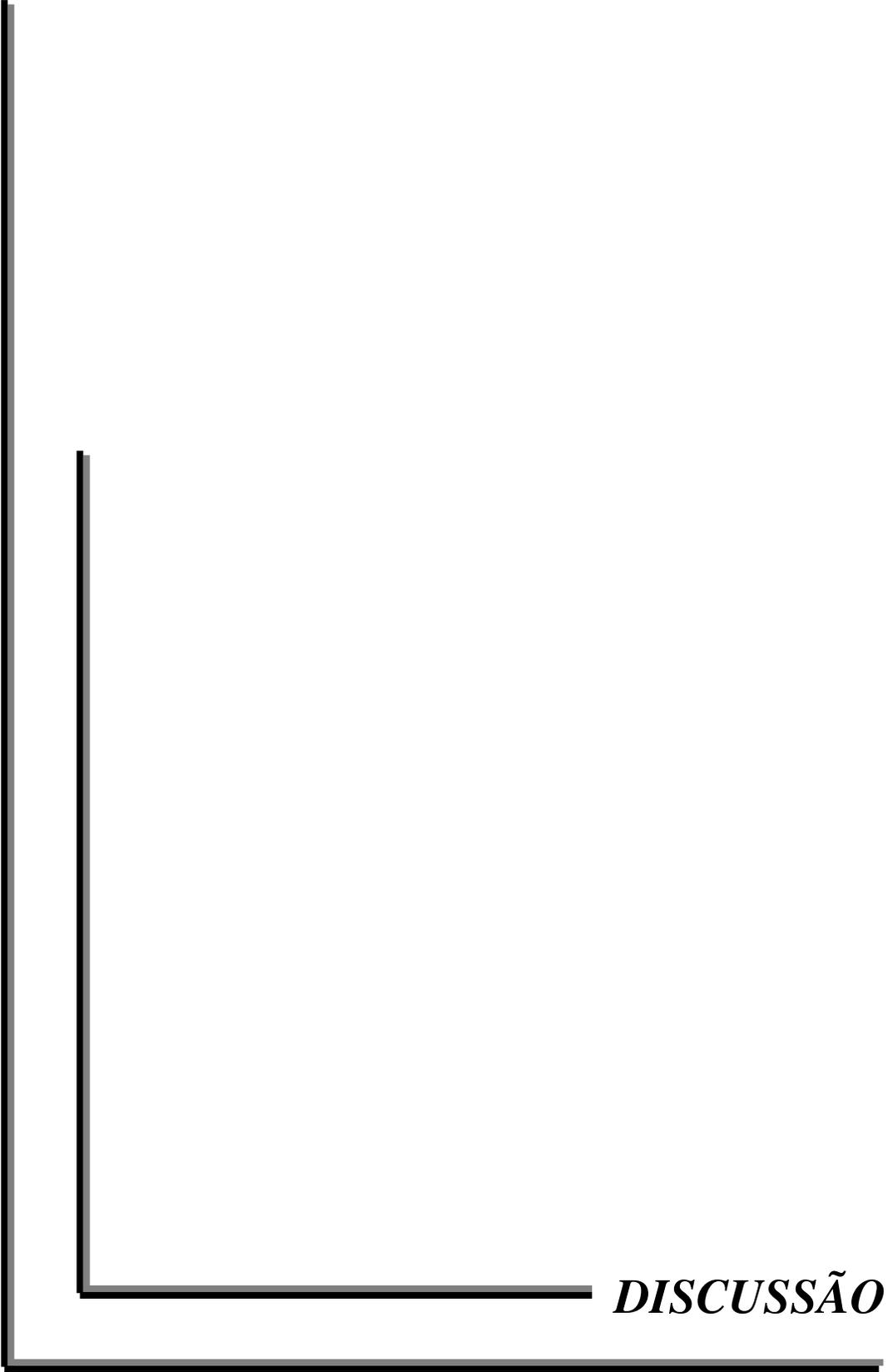


Figura 06 (cont.) – Correlações lineares simples



Características antropométricas, composição corporal e leptinemia

As características das participantes como idade, tempo de menopausa, IMC, percentagem de gordura e superfície corporal mostraram-se semelhantes entre os dois grupos, representando um pareamento adequado dos mesmos.

A circunferência da cintura e o índice cintura/quadril das participantes submetidas ao *clamp*, foram significativamente menores entre as mulheres em uso de TRH em relação ao grupo controle, sugerindo menor tendência à obesidade do tipo central. Este achado não permaneceu quando se avaliou o grupo como um todo, incluindo também as voluntárias que não foram submetidas ao *clamp*. Neste, foi verificada apenas uma tendência estatisticamente significativa para o índice C/Q. Estas diferenças podem ser atribuídas ao pequeno número de voluntárias estudadas. Uma vez que a centralização da gordura é um fator de risco cardiovascular e metabólico, estes achados indicariam efeito benéfico da TRH. A medida da cintura é um índice preditivo da gordura visceral, mas não é um método padrão ouro para a sua avaliação. Menor teor de gordura visceral seria compatível com os resultados observados em mulheres submetidas a TRH estrogênica (PERRY e colaboradores, 1998, POEHLMAN e colaboradores, 1998; TCHERNOF e colaboradores, 1998; SITES e colaboradores, 1998) ou combinada - estrógeno e progesterona - (WERBEL e colaboradores, 1995) em outros estudos. SITES e colaboradores (2001) também observaram uma melhora da centralização de gordura, enquanto nenhuma influência da TRH sobre a redistribuição de gordura foi verificada por outros pesquisadores (KRITZ-SILVERSTEIN e colaboradores, 1996).

Não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos quanto à composição corporal avaliada através da bioimpedância elétrica. Esta observação é concordante à de PASQUALI e colaboradores, 1997, que não observaram diferenças entre mulheres na pré, peri e pós-menopausa, sem TRH. Assim, a diminuição da massa magra (POEHLMAN e colaboradores, 1998) e o aumento do acúmulo de tecido adiposo total e/ou central (LEY e colaboradores, 1992) não foram confirmados neste grupo de voluntárias.

O IMC e a massa adiposa, como percentagem do peso corporal ou total, foram correlacionados com a leptinemia no atual estudo, demonstrando novamente que, entre outras funções, este hormônio adipocitário é um marcador do conteúdo de gordura corporal.

Este resultado é compatível com a observação de níveis mais altos de leptina em mulheres do que em homens para um mesmo IMC, visto que neste caso o total de gordura é maior nas primeiras (MUSCELLI e colaboradores, 1996).

O idoso, por sua vez tem níveis séricos de leptina mais elevados que o jovem, podendo este achado ser explicável em parte pelo aumento do tecido adiposo com a idade.

Quanto à TRH, neste estudo os valores de leptina não diferiram entre os grupos, sugerindo nenhuma interferência desta reposição. Este achado é esperado, visto que não foram constatadas diferenças na composição corporal dos grupos, ainda que algum efeito independente da TRH sobre a leptinemia não tenha sido demonstrado ou excluído. E de fato, GOWER e colaboradores, em 2000 observaram que a gordura corporal total, massa magra e insulina de jejum, mas não a TRH, foram determinantes significativos da leptina sérica.

MILLEWICZ e colaboradores, em 2000, observaram uma forte correlação direta da leptina com o IMC, sem diferenças entre mulheres obesas na pré e na pós-menopausa. As primeiras, entretanto, apresentaram níveis três vezes mais elevados do que as mulheres magras na mesma fase. HADJI e colaboradores, em 2000, também não observou modificações dos valores séricos da leptina com a transição da menopausa. Em acréscimo, MALACARA e colaboradores, em 2001, constataram que mulheres obesas na pós-menopausa apresentavam maiores valores de leptina do que as magras, enquanto KANALEY e colaboradores, em 2001, verificaram que a gordura corporal total e atividade física respondiam por 47% da variabilidade na concentração de leptina, enquanto que a centralização de gordura, idade e menopausa não foram preditores significativos em mulheres.

Assim, parece que a adiposidade foi o fator mais importante para a determinação sérica da leptina e que não foi contraposto pela TRH. As variáveis IMC, cintura, sensibilidade à insulina e leptina foram fortemente correlacionadas entre si em nosso estudo. A correlação múltipla com critério de seleção *stepwise* sugeriu que a resistência à insulina e a circunferência da cintura, além da gordura percentual, sejam importantes para a determinação da leptinemia, uma vez que estas variáveis permaneceram significativas no modelo.

Clamp

O *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico foi utilizado como método padrão ouro para avaliar a sensibilidade à insulina (DEFRONZO e colaboradores, 1979). O *M value*, ou a utilização corporal total de glicose, foi calculada através da taxa de infusão exógena de glicose, no período de 80 a 120 minutos do *clamp*. Ele foi corrigido pela variação na glicemia em volume de distribuição de 250 ml/kg de peso, habitualmente considerado para o homem.

Conforme o esperado, as participantes mostraram-se resistentes à insulina, apresentando utilização de glicose similar àquela descrita previamente para indivíduos portadores de obesidade da mesma magnitude (MUSCELLI e colaboradores, 1996).

A sensibilidade à insulina (*M*, corrigido por quilo de massa magra ou pelo peso corporal) mostrou-se semelhante entre os dois grupos. O *clearance* de insulina foi calculado durante o *clamp*, utilizando-se a taxa de infusão da mesma. Pode ter ocorrido que a secreção residual deste hormônio tenha sido maior que 50% daquela basal, conforme pré suposto pela fórmula aplicada. Isto, porém não é provável e, caso tenha ocorrido, mostrou-se pouco relevante e análogo entre os grupos, similares com relação à obesidade e resistência periférica à insulina. Em função de *clearance* e insulinemia de jejum semelhantes, a taxa de liberação de insulina em jejum não apresentou diferenças significativas entre os dois grupos. Estes resultados sugerem que a reposição hormonal combinada em mulheres com sobrepeso ou obesas não promove alteração na sensibilidade à insulina. Pode-se também inferir que o fator sobrepeso ou obesidade sejam mais relevantes na determinação da resistência à insulina que a reposição hormonal combinada.

Outra ação importante da insulina, que não foi avaliada neste estudo é a supressão da liberação endógena de glicose. O cálculo do *M*, considerando apenas a taxa de infusão exógena de glicose pode ter acarretado algum grau de imprecisão, já que desconsidera a liberação endógena, próxima de zero. Ainda, a medida desta variável teria acarretado dificuldades que não poderiam ser resolvidas no presente experimento.

A ausência de efeito da TRH sobre a sensibilidade à insulina constatada neste estudo está de acordo com estudos prévios (SITES e colaboradores, 2001; WALKER e colaboradores, 2001). Entretanto, estes resultados são controversos, pois tanto a melhora

(CROOK e colaboradores, 1997; STEVENSON e colaboradores, 1999; COLACURCI e colaboradores, 1998) como a piora da mesma (RYAN, e colaboradores 2002), foram também relatadas.

Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo sugerem que os fatores sobrepeso ou obesidade são relevantes e podem estar atenuando ou anulando os efeitos metabólicos da TRH.

DUNCAN e colaboradores, em 1999 avaliaram 22 mulheres após menopausa cirúrgica em uso de estrógenos por via transdérmica ou placebo por seis semanas, seguida da associação de estrógeno e progesterona por via oral por mais seis semanas. Avaliaram a sensibilidade à insulina através da técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico e verificaram que a reposição hormonal somente com os estrógenos promoveu um efeito benéfico sobre a sensibilidade à insulina, que tendeu a diminuir com menopausa. A adição da progesterona, contudo, levou à perda deste efeito e a sensibilidade à insulina mostrou-se semelhante entre mulheres sem e com reposição hormonal combinada.

Como relatado, os resultados de estudos recentes têm sido controversos. Alguns não consideraram a presença de obesidade nos grupos estudados. O fato da insulinemia e dos índices dela derivados não serem medidas de alta acurácia, pode explicar parte das discrepâncias descritas para a sensibilidade à insulina, em mulheres na menopausa (ARRANTS, 1994). É ainda possível que estas sejam parcialmente explicadas por fatores como idade, tempos de menopausa e de reposição, tipo de hormônio administrado e via de utilização.

Apesar da pequena variação nas medidas da cintura, $87,4 \pm 4,9$ no grupo CASO e $91,6 \pm 8,2$ no CT, esta esteve relacionada inversamente à sensibilidade à insulina e mostrou-se o seu principal determinante. Resultados análogos também foram observados por SITES e colaboradores, em 2000. Outras variáveis relacionadas à sensibilidade foram o IMC e a percentagem de gordura corporal.

Quanto ao HOMA IR, índice preditivo do M, foi calculado no presente estudo apenas para verificar sua associação com a medida padrão ouro, uma vez que este índice é muito mais simples para uso na clínica diária. Embora os grupos deste estudo tenham sido

constituídos por um pequeno número de participantes e dotados de faixa de M não muito ampla, a correlação deste índice ao M não foi satisfatória ($r = 0,41$; $p = 0,08$ – resultado não relatado antes).

Outras ações da insulina estudadas foram aquelas relacionadas à utilização de diferentes substratos, calculadas através do uso associado do *clamp* e da calorimetria indireta. A infusão de insulina induziu um aumento significativo na oxidação de glicose, no período *steady state* em relação ao basal, similar nos dois grupos e menor que aquele comumente descrito em indivíduos magros. A diminuição da oxidação lipídica mostrou-se, também, significativa e semelhante entre CASO e CT, demonstrando algum efeito da insulina no metabolismo dos lipídios e ausência de influência detectável da TRH. A estrutura deste estudo não nos permite distinguir entre efeitos da menopausa e da obesidade nos resultados observados.

HORBER e colaboradores, em 1997, constataram que a oxidação de proteínas e carboidratos não modificou-se com a idade e que a oxidação de gordura e desta por quilo de massa magra aumentou com a massa adiposa, somente nas mulheres.

O'SULLIVAN e colaboradores, em 2001, também observaram que mulheres na pós-menopausa apresentaram maiores valores basal e pós prandial de oxidação de lipídeos quando comparadas com mulheres grávidas e não grávidas, na pré-menopausa.

Em função de poucos relatos nesta área, novos estudos são necessários para melhor compreender os efeitos da TRH combinada nos metabolismos de carboidratos, proteínas e lipídios, bem como no gasto energético, quer em mulheres magras, quer naquelas com sobrepeso ou obesas.

Neste estudo, não houve diferença estatisticamente significativa entre o gasto energético basal dos dois grupos, mesmo quando estes valores foram ajustados pelos pesos corporal total e de massa magra. HORBER e colaboradores, em 1997, observaram diminuição do gasto energético basal com a idade em ambos os sexos. O gasto energético estimado para as participantes deste estudo foi semelhante àquele constatado em mulheres na mesma faixa etária em estudo com grande número de participantes e utilização da calorimetria indireta (CAMASTRA e colaboradores, 1999). Ele não diferiu entre os grupos, sugerindo não haver efeito da transição da menopausa ou da utilização da TRH.

Em relação à termogênese induzida pela glicose, TIG, ela representaria o aumento do metabolismo em resposta à infusão de insulina. Ela mostrou-se pouco relevante e sem diferenças significativas entre os dois grupos. CAMASTRA e colaboradores, em 1999, relataram uma relação inversa entre a TIG e a sensibilidade à insulina, assim a resistência à insulina observada em todo o grupo poderia explicar este resultado. CHMOULIOVSKY e colaboradores, em 1999 constataram aumento do gasto energético basal em obesas submetidas a TRH combinada durante três semanas e o atribuíram ao aumento em 30% da termogênese induzida pela glicose, com aumento da oxidação lipídica, que levou à redução do peso das participantes.

Teste de tolerância oral à glicose - OGTT

Todas as participantes, pelo critério de inclusão, apresentavam glicemia de jejum dentro dos valores normais ($\leq 6,1$ mmol/l) . Mas, cinco de 15, ou seja 33% das mulheres que pertenciam ao grupo CASO e 8 dentre 10, ou seja 80% do grupo CT, foram intolerantes à glicose quando submetidas ao OGTT (qui – quadrado $< 0,05$). Este achado é concordante com os resultados de GRODSTEIN e colaboradores, em 1996, em estudo prospectivo, onde foi observado menor incidência de DM tipo 2 em mulheres submetidas à TRH e de FERRARA e colaboradores, em 2001, que observaram um melhor controle de DM tipo 2 em mulheres que faziam uso de TRH.

No entanto, a frequência de IG neste estudo deve ser analisada com cautela, devido ao pequeno número de participantes e ao tipo de estudo não prospectivo. Por outro lado, o pareamento dos grupos quanto ao grau de obesidade, exclui um dos principais fatores predisponentes à IG e ao DM. VEGT e colaboradores, em 2001, observaram que a incidência cumulativa de DM estava fortemente relacionada tanto com a intolerância de glicose no jejum como à intolerância pós sobrecarga de glicose e, em particular, com a associação destas duas.

A intolerância à glicose só foi observada após a sobrecarga da glicose o que, dado à sua relação com o risco de desenvolver DM, torna este diagnóstico ainda mais importante. Isto leva a crer que mulheres com estas características deveriam ser submetidas

ao OGTT ou independentemente deveriam efetuar uma mudança no estilo de vida (atividade física e alimentar).

Assim, para as mulheres estudadas, o OGTT foi mais sensível para a detecção da intolerância à glicose do que a glicemia de jejum. Estes dados estão de acordo com o que foi observado por SHAW e colaboradores, em 1999, em estudo populacional do tipo longitudinal com cerca de 3700 participantes.

HU e colaboradores, em 2001, observaram a importância da adoção de estilo de vida saudável na prevenção do DM tipo 2. Neste estudo, observou-se que a maioria dos casos de DM poderiam ser prevenidos pela mudança no estilo de vida. Assim, estando os indivíduos com intolerância à glicose mais suscetíveis ao desenvolvimento do DM, é de grande importância este diagnóstico, a fim de se aconselhar quanto à adoção de hábitos de vida mais saudáveis (dieta e atividade física) a fim de prevenir ou retardar o aparecimento do DM.

Em 2002, o *Diabetes Prevention Program Research Group*, também observou a importância de se intervir sobre o estilo de vida (exercícios e perda de peso), para a redução da incidência do DM tipo 2 em indivíduos com intolerância à glicose no jejum e após sobrecarga de glicose.

Mulheres em uso de TRH apresentaram tendência a menor resposta insulínica à sobrecarga de glicose, em paralelo a um *clearance* de insulina equivalente, o que sugere uma menor secreção de insulina. De forma simplificada, uma resistência à insulina semelhante, que não é compensada por um grau de hiperinsulinemia similar no grupo CASO, deveria estar associado a maior ocorrência de intolerância à glicose neste grupo. Mas, pelo contrário, as participantes do grupo CASO apresentaram menor ocorrência de intolerância e menor resposta glicêmica após sobrecarga de glicose. Assim, apesar de não implicar em diferenças na sensibilidade à insulina, é possível que um melhor metabolismo de glicose no grupo CASO possa estar relacionado a um efeito ainda não elucidado desta terapia.

ESPELAND e colaboradores, em 1998, sugeriram um retardo no *clearance* de glicose em voluntárias em utilização de terapia de reposição hormonal com estrógenos ou destes associados a progestágenos, após um e três anos, em função da constatação de

menores glicemias e insulinemias basais e maiores glicemias no tempo 120 minutos do OGTT.

A área insulinêmica e a taxa de liberação de insulina foram inversamente relacionadas com a sensibilidade à insulina, seu principal determinante, demonstrando algum efeito compensatório da célula β através de hipersecreção de insulina, ainda que insuficiente pois muitas das participantes fossem intolerantes à glicose durante o OGTT.

Uma explicação alternativa seria alguma ação direta ou indireta sobre a célula β pancreática. Neste sentido, foi observado que o câncer pancreático pode ser, pelo menos em parte, uma doença estrógeno dependente (KREIGER e colaboradores, 2001). Também já se encontraram receptores para estrógeno no tecido pancreático (ROBLES-DIAZ e colaboradores, 2001), mas a ação destes hormônios sobre o pâncreas não parece bem clara. A ação dos estrógenos e da progesterona sobre a secreção pancreática são controversas em todos os aspectos desde sua existência, que tipo de receptor usaria e qual o mecanismo. Assim em células INS-1 de insulinoma não se verificou efeito do estrógeno sobre o fluxo de cálcio (HORN, e colaboradores, 2000). Ao contrário, ETCHEGOYEN e colaboradores (1998) relataram diminuição da secreção de insulina induzida pela glicose com a adição de estradiol ou 2H estradiol em doses de 0,1 a 20 μmol e, aumento com a adição de estrógeno em doses menores. Esta última foi concordante com o fechamento de canais de potássio (ATP) verificado em células pancreáticas (NADAL e colaboradores, 1998). Foi ainda sugerido que a sua ação ocorreria tanto em células α como em β , através de ligação a receptor não clássico de estrógenos.

Assim, os resultados encontrados nas voluntárias não são facilmente explicados. É importante considerar que a exclusão de participantes com intolerância à glicose observada no jejum e DM tipo 2 pode ter induzido a um viés, ou melhor, a um erro experimental. Porém, um efeito que mudasse a glicemia de jejum, provavelmente seria detectado também nas mulheres com glicemia de jejum normal.

WU e colaboradores, em 2001 observaram em estudo com cerca 5 mil mulheres, sendo duas mil na pós-menopausa, associação da intolerância à glicose com o tempo de menopausa, independente da adiposidade, pressão arterial, história familiar, idade

da menopausa, lipídeos. Este pesquisador observou que em mulheres que não faziam uso de reposição hormonal e naquelas com idade maior que 49 anos, o aumento dos anos desde a menopausa exercia uma influência negativa na tolerância à glicose e aumentava o risco de intolerância à glicose em torno de 6% para cada ano que se seguia à menopausa.

COLACURCI e colaboradores, em 1998, constataram utilizando o OGTT menores níveis de insulinemia basal em mulheres com reposição estrogênica, sugerindo, dessa forma, maior sensibilidade à insulina induzida pelo estrógeno, efeito este mais evidente quando administrado por via transdérmica em relação à via oral e reduzido pela adição de progestágeno. Entretanto, CROOK e colaboradores, em 1997 em estudo prospectivo durante 24 meses em mulheres submetidas a TRH com β -estradiol e diidrogesterona constataram redução das insulinemias basais, bem como das áreas sob as curvas insulinêmicas durante o OGTT, sugerindo que o progestágeno não atenua os efeitos benéficos do estrógeno sobre as ações da insulina.

CUCCINELI e colaboradores, em 1999 demonstraram que estrógenos por via transdérmica ou combinados com diidrogesterona reduziram a área sob a curva insulinêmica durante o OGTT, nas mulheres portadoras de hiperinsulinemia tratadas com estrógeno (12 meses) e estrógeno associado a progestágeno (12 meses). Constataram, ainda, que houve melhora da sensibilidade à insulina em todas as participantes, medida pelo *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico.

Outras ações insulínicas avaliadas: Pressão arterial e frequência cardíaca

Quanto aos valores pressóricos e frequência cardíaca medidos durante o OGTT, foram observadas diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os tempos basal e OGTT de todos os valores: PAS, PAD, PAM e FC. Estas modificações ocorreram no sentido aumento/diminuição esperado e previamente descritos.

Efeito da insulina sobre o sistema nervoso simpático tem sido repetidamente descrito. Ocorre com a administração de insulina sistemicamente um aumento dose-dependente de catecolaminas circulantes. Como consequência da ativação simpática,

deveria ser constatado um aumento pressórico após a infusão de insulina. No entanto, o que se verifica é uma pequena diminuição da PAD ao redor de 3 – 4 mmHg em indivíduos normais, devido a uma diminuição da resistência vascular periférica. A insulina aumenta o débito cardíaco através da elevação do volume sistólico e da frequência cardíaca de forma dose-dependente. É provável que estes efeitos resultem da ativação simpática, bem como de modificações do barorreflexo (MUSCELLI e colaboradores, 1998). A frequência cardíaca aumentaria secundariamente ao barorreflexo desencadeado pela queda da pressão arterial, levando ao aumento do débito cardíaco. Portanto estes efeitos estavam preservados em ambos os grupos, apesar da resistência à insulina em outras ações como descrito acima.

Efeito da TRH sobre lipídeos e ácido úrico

Além da resistência à insulina, hiperinsulinemia e centralização da gordura, outros fatores de risco foram avaliados. Assim foram dosados os lipídeos no soro e obtiveram-se resultados muito similares.

Quanto à uricemia, houve tendência a diferenças estatisticamente significativas, sendo maior no grupo CT. Os mecanismos implicados não são conhecidos e pode-se especular tanto um aumento de sua produção como um menor *clearance* renal.

WINGROVE, em 1998, constatou níveis séricos elevados de ácido úrico em não obesas na menopausa. Os resultados em relação ao ácido úrico sugerem que a TRH possa diminuir seus valores. A hiperuricemia tem-se associado à síndrome metabólica e é considerado um fator de risco cardiovascular.

Em conclusão, este estudo em mulheres obesas na pós-menopausa, demonstrou que a resistência à insulina estava presente, não foi modificada pela reposição hormonal, relacionou-se a maiores cinturas e à hiperinsulinemia, e incidência elevada de intolerantes à glicose. Demonstrou ainda que o metabolismo basal também não foi modificado pela TRH e que outras ações insulínicas como a termogênese induzida pela glicose estava diminuída.



***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

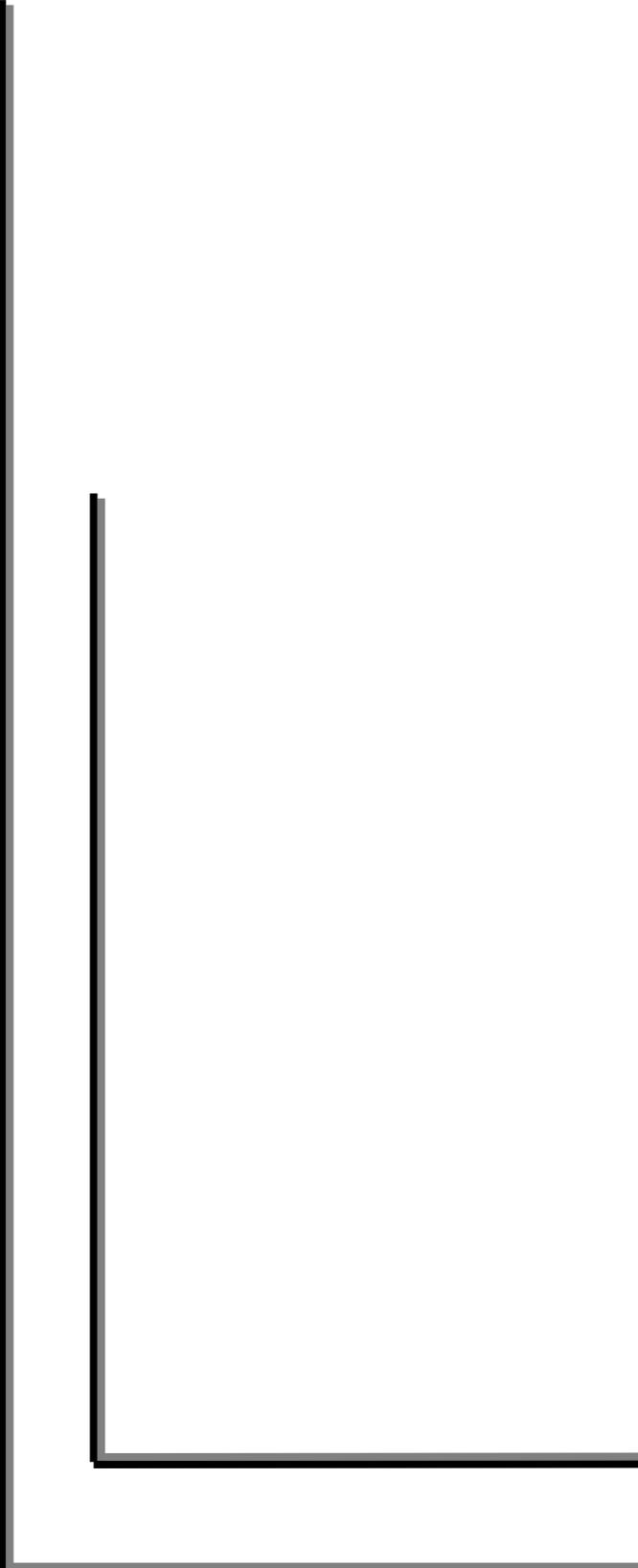
No estudo realizado, observou-se que as participantes eram resistentes à insulina, e que não houve modificação desta resistência quando se analisou as diferentes vias metabólicas: protéica, lipídica e glicídica, com o uso da TRH. A termogênese induzida pela glicose esteve diminuída nos dois grupos. Por sua vez, o metabolismo basal não foi modificado pela TRH.

Houve uma tendência a maiores níveis de insulinemia e uma maior área sob a curva glicêmica para o grupo CT, o que pode sugerir efeito da TRH sobre a secreção de insulina, no grupo CASO, que apresentou menores valores.

Observou-se uma alta percentagem de mulheres intolerantes à glicose no OGTT, com maior prevalência no grupo CT.

Não se verificaram diferenças no lipidograma e houve tendência à ocorrência de níveis séricos mais elevados de ácido úrico nas voluntárias sem TRH.

Portanto, estes resultados sugerem que, se a reposição hormonal combinada exerce algum efeito nos parâmetros avaliados, ele parece ser menos evidente do que o atribuído à obesidade, na população em questão.



***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, NATIONAL INSTITUTE OF DIABETES, DIGESTIVE AND KIDNEY DISEASES - The prevention or delay of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, **25**:742- 749, 2002.

ARRANTS, J. - Hyperinsulinemia and cardiovascular risk. **Heart Lung**, **23**:118- 122, 1994.

BARACAT, E. C.; HAIDAR, M. A.; SIMÕES, R. D.; LIMA, G. R. - Endocrinologia e fisiopatologia do climatério. **TRH Report**, **1**:4- 13, 1998.

BARACAT, E. C.; HAIDAR, M. A.; LIMA, G. R. – Síndrome do climatério. In: Atualização Terapêutica – Manual prático de Diagnóstico e Tratamento. 20^o Edição, p. 572- 574, 2001.

BARNARD, R. J.; UGIANSKIS, E. J.; MARTIN, D. A.; INKELES, S. B - Role of diet and exercise in the management of hyperinsulinemia and associated atherosclerosis risk factors. **Am. J. Cardiol.**, **69**:440- 444, 1992.

BARON, A.D.; BRECHTEL-HOOK. G.; JOHNSON, A.; HARDIN, D. - Skeletal muscle blood flow: a possible link between insulin resistance and blood pressure. **Hypertension**, **21**: 129- 135, 1993.

BONORA, E.; TARGHER, G.; ZENERE, M. B.; SAGGIANI, F.; CACCIATORI, V.; TOSI, F. - Relationship of uric acid concentration to cardiovascular risk factors in young men. Role of obesity and central fat distribution. The Verona Young Men Atherosclerosis. Risk Factors Study. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, **20**(11): 975-980, 1996.

CAMASTRA, S.; BONORA, E.; DEL PRATO, S.; WECK, M.; FERRANNINI, E. – Effect of obesity and insulin resistance on resting and glucose-induced thermogenesis in man. **Int. J. Obes.**, **23**: 1307- 13013, 1999.

CAPPUCCIO, F.P.; STRAZZULLO, P.; FARINARO, E.; TREVISAN, M. - Uric acid metabolism and tubular sodium handling. Results from a population-based study. **JAMA**, **270**: 354-359, 1994.

CAREY, D.G.; JENKINS, A.B.; CAMPBELL, L.V.; FREUND, J.; CHISHOLM, D.J. - Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. **Diabetes**, **45**:633- 638, 1996.

CAREY, V.J.; WALTERS, E.E.; COLDITZ, G.A.; SOLOMON, C.G.; WILLETT, W.C.; ROSNER, B.A.; SPEIZER, F.E.; MANSON, J.E. - Body fat distribution and risk of non insulin dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study. **Am. J. Epidemiol.**, **145**:614- 619, 1997.

CHMOULIOVSKI, L.; HABICHT, F.; JAMES, R. W.; LEHMAN, T.; CAMPANA, A.; GOLAY, A. – Beneficial effect of hormone replacement therapy on weight in obese postmenopausal women. **Maturitas**, **32**: 147- 153, 1999.

CIGOLINI, M.; TARGHER, G.; TONOLI, M.; MANARA, F.; MUGGEO, M.; DE SANDRE, G. - Hyperuricemia: relationships to body fat distribution and other components of the insulin resistance syndrome in 38-year-old healthy men and women. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, **19**(2): 92- 96, 1995.

COBELLI, C.; MARI, A.; FERRANNINI, E. - On the linearity of insulin kinetics. **Am. J. Physiol.**, **251**: E 247- 250, 1986.

COLACURCI, N.; ZARCONI, R.; MOLLO, A.; RUSSO, G.; PASSARO, M.; DE SETA, L.; DE FRANCISCIS, P. - Effects of hormone replacement therapy on glucose metabolism. **Panminerva Med.**, **40**(1): 18- 21, 1998.

CROOK, D.; GODSLAND, I. F.; HULL, J.; STEVENSON, J. C. – Hormone replacement therapy with dydrogesterone and 17-beta oestradiol: effects on serum lipoproteins and glucose tolerance during 24 month follow-up. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, **104**: 298- 304, 1997.

CUCCINELI, F.; PAPARELLA, P.; SORANNA, L.; BARINI, A.; CINQUE, B.; MANCUSO, S.; LANZONE, A. – Differential effects of transdermal plus progestagen replacement therapy on insulin metabolism in postmenopausal women: relation to their insulinemic secretion. **Eur. J. Endocrinol.**, **149**: 215- 223, 1999.

DAVIDSON, M. B. – Clinical implication of insulin resistance syndromes. **Am. J. Med.**, **99**: 420- 426, 1995.

DE FRONZO, R.A.; TOBIN, J.D.; ANDRES, R. - Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **Am. J. Physiol.**, **237**:E214- E223, 1979.

DEAN, J.; JONES, C.; HUTCHINSON, S.; PETERS, J.; HENDERSON, A. - Hyperinsulinemia and microvascular angina. **Lancet**, **337**:456- 457, 1991.

DESPRÉS, J. P.; LAMARCHE, B.; MAURIÈGE, P.; CANTIN, B.; DAGENAIS, G. R.; MOORJANI, S.; LUPIEN, P.J. - Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. **N. Engl. J. Med.**, **334**:952- 957, 1996.

DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH GROUP - Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **N. Engl. J. Med.**; **346**:393- 403, 2002.

DON GRAMBELL JR, R.; TERAN, A. – Changes in lipids and lipoproteins with long-term estrogen deficiency and hormone replacement therapy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **165**: 307-0317, 1991.

DONAHUE, R. P.; ORCHARD T.J. - Diabetes mellitus and macrovascular complications: An Epidemiological perspective. **Diabetes Care**, **15**:1141-1155, 1992.

DUNCAN, A.C.; LYALL, H.; ROBERTS, R.N.; PETRIE, J.R.; PERERA, M.J.; MONAGHAN, S.; HART, D.M.; CONNEL, J.M.; LUMSDEN, M.A. - The effect of estradiol and a combined estradiol/progestagen preparation on insulin sensitivity in healthy postmenopausal women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **84**:2402-2407, 1999.

ETCHEGOYEN, G. S.; BORELLI, M. I.; ROSSI, J. P.; GAGLIARDINO, J. J. – Effect of 2-hydroxyoestradiol on insulin secretion in normal rat pancreatic islets. **Diabetes Metab.**, **24**(5): 428- 433, 1998.

FENDRI, S.; ROUSSEL, B.; LORMEAU, B.; TRIBOUT, B.; LALAU, J.D. - Insulin sensitivity, insulin action and fibrinolysis activity in nondiabetic and diabetic obese subjects. **Metabolism**, **47**:1372-1375, 1998.

FERRANNINI, E.; NATALI, A.; BELL, P.; CAVALLO-PERIN, P.; LALIC, N.; MINGRONE, G. - Insulin resistance and hypersecretion in obesity. **J. Clin. Invest.**, **100**:1166-1173, 1997.

FERRANNINI, E. - Insulin resistance and hyperinsulinemia: why are they important? **Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes**, (suppl. 1):S13-S16, 1999.

FERRANNINI, E. - The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. **Metabolism**, **37**: 287- 301, 1988.

FERRANNINI, E.; BUZZIGOLI, G.; BONADONNA, R.; GIORICO, M.A.; OLEGGINI, M.; GRAZIADEI, L.; PEDRINELLI, R.; BRANDI, L.; BEVILACQUA, S. - Insulin resistance in essential hypertension. **N. Engl. J. Med.**, **317**:350-357, 1987.

FERRARA, A.; KARTER A.J.; ACKERSON L.M.; LIU J.Y.; SELBY J.V. - Hormone replacement therapy is associated with better glycemic control in women with type 2 diabetes: The Northern California Kaiser Permanent Diabetes Registry. **Diabetes Care**, **24**(7):1144-1150, 2001.

FLACK, J.; SOWERS, J. - Epidemiologic and clinical aspects of insulin resistance and hyperinsulinemia. **Am. J. Med.**, **91**:11-19, 1991.

FONTBONNE, A. M.; ESCHWÈGE, E. M. - Insulin and cardiovascular disease. Paris prospective study. **Diabetes Care**, **14**: 461- 469, 1991.

FORD, E. S.; GIBBS, W. H.; DIETZ, W. H. - Prevalence of the metabolic syndrome among US adults - Findings from the third national healthy and nutrition examination survey. **JAMA**, **287**: 356-359, 2002.

FREEDMAN, D.S.; WILLIAMSON, D.F.; GUNTER, E.W.; BYERS, T. - Relation of serum uric acid to mortality and ischemic heart disease. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. **Am. J. Epidemiol.**, **141**: 637-644, 1995.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. - Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of the preparative ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, **18**:499-502, 1972.

GAMBACCIANI, M.; CIAPONI, M.; CAPPAGLI, B.; PIAGGESI, L.; DE SIMONE, L.; ORLANDI, R.; GENAZZANI, A.R. - Body weight, body fat distribution, and hormonal replacement therapy in early postmenopausal women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **82**:414-417, 1997.

GAMBRELL, R.D.; TERAN, A.Z. - Changes in lipids and lipoproteins with long-term estrogen deficiency and hormone replacement therapy. **Am. J. Obstet. Gynecol.** **165**: 307-317, 1991.

GARVEY, W.T. and BIRNBAUM, M. - Cellular insulin action and insulin resistance. **In: Clin. Endocrinol. Metab.**, **7**(4): 785-873, 1993. Ed: Ferrannini E.

GENAZZANI, A.R. - Body weight, body fat distribution, and hormonal replacement therapy in early postmenopausal women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **82**:414-417, 1997.

GORDON T.; KANNEL W.B.; HJÖRTLAND M.C.; MCNAMARA P.M. - Menopause and coronary heart disease. **Ann. Inter. Med.**, **89**:157-161, 1978.

GOWER, B.A.; NAGY, T.R.; GORAN, M.I.; SMITH, A.; KENT, E. - Leptin in postmenopausal women: influence of hormone therapy, insulin, and fat distribution. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **85**:1770-1775, 2000.

GRADY, D.; HERRINGTON, D.; BITTNER, V.; BLUMENTHAL, R.; DAVIDSON, M.; HLATKY, M.; HSIA, J.; HULEY, S.; HERD, A.; KHAN, S.; NEWBY, L. K.; WATERS, D.; VITTINGHOF, E.; WENGER, N. for the HERS research group. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy. Heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). **JAMA**, **288**: 49- 57, 2002.

GRADY, D.; RUBIN, S. M.; PETITTI, D. B.; FOX, C. S.; BLACK, D.; ETTINGER, B.; ERNSTER, V. L.; CUMMINGS, S. R. – Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. **Ann. Int. Med.**, **117**: 1016- 1037, 1992.

GRODSTEIN, F.; STAMPFER, M. J.; MANSON, J. E.; COLDITZ, G. A.; WILLETT, W.C.; ROSNER, B.; SPEIZER, F.E.; HENNEKENS, C.H. – Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. **N. Engl. J. Med.**, **335**: 453- 461, 1996.

GUTHRIE, J. R.; BALL, M.; DUDLEY, E.C.; GARAMSZEGI, C. V.; WAHLQVIST, M. L.; DENNEVSTEIN, L.; BURGER, H. G. – Impaired fasting glycaemia in middle-aged women: a prospective study. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, **25**(5): 646:651, 2001.

HADJI, P.; HARS, D.; BOCK, K.; STURM, G.; BAUER, T.; EMONS, G.; SCHULZ, K. D. – The influence of menopause and body mass index on serum leptin concentrations. **Eur. J. Endocrinol.**, **143**(1):55- 60, 2000.

HAFNER, S. M.; VALDEZ, R. A., HAZVDA, H. P.; MITCHELL, B. D.; NORALES, P. A.; STERN, M. P. – Prospective analysis of the insulin resistance syndrome (syndrome X). **Diabetes**, **41**: 715- 722, 1992.

HERNANDÉZ-ONO, A.; MONTER-CARREOLA, G.; ZAMORA-GONZÁLEZ, J.; CARDOSO-SALDÑA, G.; POSADAS-SÁNCHEZ, R.; TORRES-TAMAYO, M.; POSADAS-ROMERO, C. - Association of visceral fat with coronary risk factors in a population-based sample of postmenopausal women. **Int. J. Obes.**, **26**:33-39, 2002.

HIRSCH, J. - Health implications of obesity. **Ann. Intern. Med.**, **103**:1073-1077, 1985.

HORBER, F. F.; GRUBER, B.; THOMI, F.; JENSEN, E. X.; JAEGER, P. – Effect of sex and age on bone mass, body composition and fuel metabolism in humans. **Nutrition**, **13**: 524- 534, 1997.

HORN, P. A.; MOHLIG, M.; OSTERHOFF, M.; WOLTER, S.; HOFMANN, J.; STOCKING, C.; OSTERTAG, W.; WAHL, M.; SCHATZ, H.; PFEIFFER, A. – Effect of estradiol on insulin secreting INS-1 cells overexpressing estrogen receptors. **Eur. J. Endocrinol.**, **142**(1): 84- 91, 2000.

HU, F.B.; MANSON, J.E.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.; LIU, S.; SOLOMON, C.G.; WILLETT, W.C. - Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. **N. Engl. J. Med.**, **345**:790-797, 2001.

HULLEY, S.; GRADY, D.; BUSH, T.; FURBERG, C.; HERRINGTON, D.; RIGGS, B.; VITTINGHOF, E. - Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. **JAMA**, **280**:605-613, 1998.

HULLEY, S.; FURBERG, C.; BARRET-CONNOR, E.; CAULEY, J.; GRADY, D.; HASKELL, W.; KNOPP, R.; LOWERY, M.; SATTERFIELD, S.; SCHROTT, H.; VITTINGHOF, E.; HUNNINGHAKE, D. for the HERS research group. Noncardiovascular outcomes during 6.8 years of hormone therapy. Heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). **JAMA**, **288**: 58- 66, 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística:

<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/tabuadevida/textomulheres2000.shtm>>, consulta em 2002.

ISOMAA, B.; ALMGREN, P.; TUOMI, T. ; FORSÉN, B.; LAHTI, K.; NISSÉN, M.; TASKINEN, M.; GROOP, L. – Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. **Diabetes Care**, **24**: 683- 689, 2001.

JIAO, S.; KAMEDA, K.; MATSUZAWA, Y.; KUBO, M.; NONAKA, K.; TARUI, S. - Influence of endogenous hyperinsulinism on high density lipoprotein level in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. **Atherosclerosis**, **60**(3): 279-286, 1986.

KANALEY, J. A.; SAMES, C.; SWISHER, L.; SWICK, A. G.; PLOUTZ-SNYDER, L. L.; STEPPAN, C. M.; SAGENDORF, K. S.; FEIGLIN, D.; JAYNES, E. B.; MEYER, R. A.; WEINSTOCK, R. S. – Abdominal fat distribution in pre- and postmenopausal women: The impact of physical activity, age, and menopause status. **Metabolism**, **50**(8): 976- 982, 2001.

KISSEBACH, A. H.; VYDELINGUM, N.; MURRAY, R.; EVANS, D.J.; HARTZ, A. J.; KALKHOFF, R.K.; ADAMS, P. - Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **54**: 254-260, 1982

KOPELMAN, P.G. - Hormones and obesity. **Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.**, **8**(3): 549-575, 1994.

KREIGER, N.; LACROIX, J.; SLOAN, M. – Hormonal factors and pancreatic cancer in women. **Ann. Epidemiol.**, **11**(8): 563- 567, 2001.

KRITZ-SILVERSTEIN, D.; BARRET-CONNOR, E. - Long-term postmenopausal hormone use, obesity and fat distribution in older women. **JAMA**, **275**:46-49, 1996.

KUMAGAI, S.; HOMANG, A.; BJÖRNTORP, P. – The effects of oestrogen and progesterone on insulin sensitivity in female rats. **Acta Physiol. Scand.**, **149**: 91-97, 1993.

LANGENBERG, P.; KJERULFF, K.H.; STOLLEY, P.D. - Hormone replacement and menopausal symptoms following hysterectomy. **Am. J. Epidemiol.**, **146**(10): 870-880, 1997.

LAPIDUS, L.; BENGSTSSON, C.; LARSSON, B; PENNERT, K.; RYBO, E.; SJOSTROM, L. - Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. **Br. Med. J.**; **289**: 1257-1261, 1984.

LEE, M. M.; SCD, M. B. B. S.; MANSON, J. E.; HENNECKENS, C. H.; PAFFENBARGER JR, R. S. – Body weight and mortality. **JAMA**, **270** (23): 2823- 2828, 1993.

LEHTO, S.; NISKANEN, L.; RÖNNEMAA, T.; LAAKSO, M. -: Serum uric acid is a strong predictor of stroke in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Stroke**, **29**: 635-639, 1998.

LEVYA, F.; ANKER, S.; SWAN, J.W.; GODSLAND, E.F.; WINGROVE, C.S.; CHUA, T.P.; STEVENSON, J.C.; COATS, A.J.S. - Serum uric acid as an index of impaired oxidative metabolism in chronic heart failure. **Eur. Heart J.**, **18**: 858-865, 1997.

LEY C.J.; LEES B.; STEVENSON J.C. - Sex and menopause-associated changes in body fat distribution. **Am. J. Clin. Nutr.**, **55**:950-954, 1992.

LINS, A. P. M.; SICHIERI, R. – Influência da menopausa no índice de massa corporal. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, **45**(3): 265- 270, 2001.

LIP, G.Y.; BEEVERS, G.; ZARIFIS, J. - Hormone replacement therapy and cardiovascular risk: the cardiovascular physicians' viewpoint. **J. Intern. Med.**, **238**(5): 389-399, 1995.

LITHELL, H. - Insulin resistance and cardiovascular drugs. **Clin. Exp. Hypertens.**, **14**:151-162., 1992.

MALACARA, J. M.; FAJARDO, M. E.; NAVA, L. E. – Gonadotropin at menopause: the influence of obesity, insulin resistance, and estrogens. **Steroids**, **66**(7): 559- 567, 2001.

MATEOS, F.A.; PUIG, J.G.; RAMOS, T.; GONZÁLEZ, P.; ORDÁZ, J. - Sex differences in uric acid metabolism in adults: evidence for a lack of influence of estradiol-17 b (E2) on the renal handling of urate. **Metabolism**, **35**: 343-348, 1986.

MATTHEWS, D.R.; HOSKER, J.P.; RUDENSKI, A.S.; NAYLOR, B.A.; TREACHER, D.F.; TURNER, R.C. - Homeostasis mode assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, **28**:412-419, 1985.

MC GUIRRE, E.A.H.; HELDERMAN, J.H.; TOBIN, J.D. - Effects of arterial versus venous sampling on analysis of glucose kinetics in man. **J. Appl. Physiol.**, **41**(4)565- 573, 1976.

MC NAGNY, S.E.; WENGER, N.K.; FRANK, E. - Personal use of postmenopausal hormone replacement therapy by women physicians in the United States. **Ann. Int. Med.**, **127**(12): 1093- 1096, 1997.

MC TIERNAN, A.; STANFORD, J. L.; DALING, J. R.; VOIGT, L. F. - Prevalence and correlates of recreational physical activity in women aged 50-64 year. **Menopause**, **5**(2): 95- 101, 1998.

MEIRELLES, R. J. A – Climatério e obesidade. **Arq. Br. Endocrinol. Metab.**, **43**(2), suppl.2: S105- S108, 1999.

MIKKELSEN, W.M.; DODGE, H.J.; VALKENBURG, H. - The distribution of serum uric acid values in a population unselected as to gout or hyperuricemia. **Am. J. Med.**, **39**: 242-251, 1965.

MILEWICZ, A.; BIDZINSKA, B.; MIKULSKI, E.; DEMISSIE, M.; TWOROWSKA, U. – Influence of obesity and menopausal status on serum leptin, cholecystokinin, galamin and neuropeptide Y levels. **Gynecol.**; **14**(3): 196- 203, 2000.

MILEWICZ, A.; BIDZINSKA, B.; SIDOROWICZ, A. - Perimenopausal obesity. **Gynecol. Endocrinol.**, **10**(4): 285-291, 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – web page:

<http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/carencias/index.html>, acesso em 2002.

MONTEIRO, C.A. (org), *et al* - Padrões de Alimentação e Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil: Subsídios para o estabelecimento de Guias Alimentares para a População Brasileira. NUPENS/USP, Junho, 1999.

MUSCELLI, E. - Insulina: Aspectos fisiológicos. **Hipertensão**, **1**:46-49, 1998.

MUSCELLI, E.; CAMASTRA, S.; CATALANO, C.; GALVAN, A.Q.; CIOCIARO, D.; BALDI, S.; FERRANNINI, E. - Metabolic and cardiovascular assessment in moderate obesity: effect of weight loss. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **82**: 2937-2943, 1997.

MUSCELLI, E.; CAMASTRA, S.; GASTALDELLI, A.; NATALI, A.; MASONI, A.; PECORI, N.; FERRANNINI, E. - Influence of duration of obesity on the insulin resistance of obese non-diabetic patients. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, **22**(3): 262- 267, 1998.

MUSCELLI, E.; CAMASTRA, S.; MASONI, A.; BALDI, S.; SIRONI, A. M.; NATALI, A.; FERRANNINI, E. – Acute insulin administration does not affect plasma leptin levels in lean or obese subjects. **Eur. J. Clin. Invest.**, **26**: 940-943, 1996.

MUSCELLI, E.; EMDIN, M.; NATALI, A.; PRATALI, L.; CAMASTRA, S.; GASTALDELLI, A.; BALDI, S.; CARPEGGIANI, C.; FERRANNINI, E. - Autonomic and hemodynamic responses to insulin in lean and obese humans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **83**: 2084-2090, 1998.

NABULSI, A. A.; FOLSOM, A. R.; WHITE, A.; PATSCH, W.; HEISS, G.; WU, K. K.; SZKLO, M. – For the atherosclerosis risk in communities study investigators. Association of hormone replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. **N. Engl. J. Med.**, **328**: 1069- 1075, 1993.

NABULSI, A.A.; FOLSOM, A.R.; HEISS, G.; WEIR, S.S.; CHAMBLESS, L.E.; WATSON, R.; ECKFELDT, J.H. - Fasting hyperinsulinemia and cardiovascular disease risk factors in nondiabetic adults: stronger associations in lean versus obese subjects. **Metabolism**, **44**:914-922, 1995.

NADAL, A.; ROVIRA, J. M.; LARIBI, O.; LEON-QUINTO, T.; ANDREU, E.; RIPOLI, C.; SORIA, B. – Rapid insulinotropic effect of 17beta-estradiol via a plasma membrane receptor. **FASEB J.**, **12**(13): 1341- 1348, 1998.

NAKAMURA, H. - Association of hyperuricemia with hyperlipidemia and obesity. **Nippon Rinsho** **54**(12): 3289-3292, 1996.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH - Third report of cholesterol education program panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). BETHESDA, md: National Institutes of health; NIH Publication, 01-3670, 2001.

O'SULLIVAN, A. J.; MARTIN, A., BROWN, M. A. – Efficient fat storage in premenopausal women and in early pregnancy: a role of estrogen. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **86**(10): 4951- 4956, 2001.

PALIN, S. L.; KUMAR, S.; STURDEE, D.W.; BARNETT, A. H. – HRT in women with diabetes – review of the effects on glucose and lipid metabolism. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, **54**: 67- 77, 2001.

PAN, X.R.; LI, G.W.; HU, Y.H.; WANG, J.X.; YANG, W.Y.; NA, Z.X.; HU, Z.X.; LIN, J.; XIAO, J.Z.; CAO, H.B.; LIU, P.A ; JIANG, X.G.; JIANG, Y.Y.; WANG, J.P.; ZHENG, H.; ZHANG, H.; BENNETT, P.H.; HOWARD, B.V. - Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The DA QING IGT and diabetes study. **Diabetes Care**, **20**:537-544, 1997.

PASQUALI, R.; CASIMIRI, F.; LABATE, A. M. M.; TORTELLI, O.; PASCAL, G.; ANCONETANI, B.; GATTO, M.R.; FLAMIA, R.; CAPELLI, M.; BARBARA, L. – Body weight, fat distribution and the menopausal status in women. **Int. J. Obes.**, **18**: 614- 621, 1994.

PASQUALI, R.; CASIMIRI, F.; PASCAL, G.; TORTELLI, O.; LABATE, A.M.; BERTAZZO, D.; VICENNATI, V.; GADDI, A. - Influence of menopause on blood cholesterol levels in women: the role of body composition, fat distribution and hormonal milieu. Virgilio Menopause Group. **J. Int. Med.**, **241**(3):195-203, 1997.

PERRY AC, ALLISON M, APPELEGATE EB, JACKSON ML, MILLER PC – The relationship between fat distribution and coronary risk factors in sedentary postmenopausal women on and off hormone replacement therapy. **Obes. Res.**, **6**(1): 40- 46, 1998.

PERRY, A.C.; APPELEGATE, E.B.; ALLISON, M.L.; MILLER, P.C.; SIGNORILE, J.F. - Relation between anthropometric measures of fat distribution and cardiovascular risk factors in overweight pre- and postmenopausal women. **Am. J. Clin. Nutr.**, **66**:829-836, 1997.

PERRY, I.J.; WANNAMETHEE, S.G.; WALKER, M.K.; THOMSON, A.G.; WHINCUP, P.H. - Prospective study of risk factors for development of non insulin dependent diabetes in middle aged British men. **B.M.I.**, **310**: 560-564, 1995.

PERSKY, V.W.; DYER, A. R.; IDRIS-SPVEN, E. *et al* - Uric acid: a risk factor for coronary heart disease? **Circulation**, **59**: 969-977, 1979

PNSN: **Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição**. Ministério da Saúde. <www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/carencias/index.html>

POEHLMAN, E.T.; TCHERNOF, A. - Traversing the menopause: changes in energy expenditure and body composition. **Coron. Artery Dis.**, **9**(12):799-903, 1998.

POEHLMAN, E.T.; TOTH, M.J.; GARDNER, A.W. - Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. **Ann. Inter. Med.** **123**: 727-728, 1995.

POLONSKI, K.S.; GIVEN, B.D.; VAN CAUTER, E. - Twenty-four-hour profiles and pulsate pattern of insulin secretion in normal and obese subjects. **J. Clin. Invest.**, **81**: 442-448, 1988.

POTTEIGER, J.A.; JACOBSEN D.J., DONNELLY, J.E. - A comparison of methods for analyzing glucose and insulin areas under the curve following nine months of exercise in overweight adults. **International Journal of Obesity** **26**:87-89, 2002.

PRICE, T.M.; O'BRIEN, S.N.; WELTER, B.H.; GEORGE, R.; ANANDJIWALA, J.; KILGORE, M. - Estrogen regulation of adipose tissue lipoprotein lipase - possible mechanism of body fat distribution. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **178**:101-107, 1998.

PUGEAT, M.; MOULIN, P.; COUSIN, P. *et al.*: Interrelations between sex hormone binding globulin (SHBG), plasma lipoproteins and cardiovascular risk. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.**, **53**(1-6): 567-572, 1995.

RASTAM, L.; PRINEAS, R.J.; GOMEZ-MARIN, O. - Ratio of cuff / arm circumference as a determinant of arterial blood pressure measurements in adults. **J. Int. Med.**, **227**: 225-232, 1990.

RATHMANN, W.; FUNKHOUSER, E.; DYER, A.R.; ROSEMAN, J.M. - Relations of hyperuricemia with the various components of the insulin resistance syndrome in young black and with adults: the CARDIA study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults. **Ann. Epidemiol.**, **8**(4): 250-261, 1998.

- REAVEN, G. - Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia. **Am. J. Med.**, **91**:11-19, 1991.
- REAVEN, G. - The role of insulin resistance and hyperinsulinemia in coronary heart disease. **Metabolism**, **41**:16-19, 1992.
- REBAR, R. W. – Doenças endócrinas e da reprodução. In: CECIL – Tratado de Medicina Interna. Bennet e Plum. 20^o ed. 1997. cap. XVII, p. 1450- 1452.
- REXRODE, K. M.; CAREY, V.J.; HENNEKENS, C.H.; WALTERS, E.E.; COLDITZ, G.A.; STAMPFER, M.J.; WILLETT, W.C.; MANSON, J.E. – Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. **JAMA**, **280**: 1843-1848, 1998.
- RINCON, J.; HOLMANG, A.; WAHLSTROM, E. O.; LONNROTH, P.; BJÖRNTORP, P.; ZIERATH J. R.; WALLBERG-HENRIKSSON, H. – Mechanisms behind insulin resistance in rat skeletal muscle after oophorectomy and additional testosterone treatment. **Diabetes**, **45**: 615- 621, 1996.
- ROBLES-DIAS, G.; DUARTE-ROJO, A. – Pancreas: a sex steroid-dependent tissue. **Isr. Med. Assoc. J.**, **3**(5): 364- 368, 2001.
- ROCCHINI, A.P. - Insulin resistance, obesity and hypertension. **J. Nutr.**, **125**: 1718S-1724S, 1995.
- RYAN, A. S.; NICKLAS, B. J.; BERMAN, D. M. – Hormone replacement therapy, insulin sensitivity, and abdominal obesity in postmenopausal women. **Diabetes Care**, **25**: 127- 133, 2002.
- SAMARAS, K.; SPECTOR, T. D.; NGUYEN, T. V.; BAAN, K.; CAMPBELL, L.V.; KELLY, P.J. – Independent genetic factors determine the amount and distribution of fat in women after the menopause. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **82**: 781- 785, 1997.
- SCHMIDT, M.I.; WATSON, R.L.; DUNCAN, B.B.; METCALF, P.; BRANCATI, F.L.; SHARRET, A.R.; DAVIS, C.E.; HEISS, G. - Clustering of dyslipidemia, hyperuricemia, diabetes, and hypertension and its association with fasting insulin and central and overall obesity in general population. Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. **Metabolism**, **45**(6): 699-706, 1996.

SHAW, J.E.; ZIMMET, P.Z.; COURTEN, M.; DOWSE, G.K.; CHITSON, P.; GAREEBOO, H.; HEMRAJ, F.; FAREED, D.; TUOMILEHTO, J.; ALBERTI, K.G.M. - Impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance: What best predicts future diabetes in Mauritius? **Diabetes Care**, **22**:399-402, 1999.

SHEPS, S.G.; DART, R.A. - New guidelines for prevention, detection, evaluation, and treatment of hypertension: Joint National Committee VI. **Chest**, **113**: 263-265, 1998.

SIEVERS, M.L.; BENNETT, P.H.; NELSON, R.G. - Effect of glycemia on mortality in Pima Indians with type 2 Diabetes. **Diabetes**, **48**:896-902, 1999.

SINAGRA, D.; GRECO, D.; SCARPITTA, A.M.; BONAVENTURA, V. - Serum uric acid, insulin secretion and resistance in nonhyperuricemic and hyperuricemic obese females subjects. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, **20**(11): 1041-1043, 1996.

SITES, C.K. - Hormone replacement therapy: cardiovascular benefits for aging women. **Coron. Artery. Dis.**, **9**(12):789-93, 1998.

SITES, C.K.; BROCHU, M.; TCHERNOF, A.; POEHLMAN, E.T. - Relationship between hormone replacement therapy use with body fat distribution and insulin sensitivity in obese postmenopausal women. **Metabolism**, **50**(7):835-840, 2001.

SITES, C.K.; CALLES-ESCADÓN, J.; BROCHU, M.; BUTTERFIELD, M.; ASHIKAGA, T.; POEHLMAN, E. - Relation of regional fat distribution to insulin sensitivity in postmenopausal women. **Fertil. Steril.**, **73**:61-65, 2000.

SITES, C.K.; TOTH, M.J.; CUSHMAN, M.; L'HOMMEDIEU, G.D.; TCHERNOF, A.; TRACY, R.P.; POEHLMAN, E.T. - Menopause-related differences in inflammation markers and their relationship to body fat distribution and insulin-stimulated glucose disposal. **Fertil. Steril.**, **77**(1):128-135, 2002.

STEVENSON, J.C.; CROOK, D.; GODSLAND, I.F.; *et al.* - Hormone replacement therapy and the cardiovascular system. Non lipids effects. **Drug**, **47** (Suppl. 2): 35- 41, 1994.

STOLAR, M. - Atherosclerosis in diabetes: the role of hyperinsulinemia. **Metabolism** 37:1-9, 1988.

TCHERNOF, A.; CALLES-SCANDON, J.; SITES, C.K.; POELHMAN, E.T. - Menopause, central body fatness, and insulin resistance: effects of hormone-replacement therapy. **Coron. Artery. Dis.**, 9(8):503-511, 1998.

TOTH, M.J.; SITES, C.K.; ELTABBAKH, G.H.; POEHLMAN, E.T. - Effect of menopausal status on insulin-stimulated glucose disposal. **Diabetes Care**, 23:801-806, 2000.

TREVISAN, M.; LIU, J.; BAHASAS, F. B.; MENOTTI, A.- Syndrome X and mortality: a population based study. **Am. J. Epidemiol.**, 148: 958- 966, 1998.

TUOMILEHTO, J.; LINDSTROM, J.; ERIKSSON, J.G.; VALLE, T.T.; HAMALAINEN, H.; ILANNE-PARIKKA, P.; KEINANEN-KIUKAANNIEMI, S.; LAAKSO, M.; LOUHERANTA, A.; RASTAS, M.; SALMINEN, V.; UUSITUPA, M. - Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **N. Engl. J. Med.**, 344:1343- 1350, 2001.

VAN ITALLIE, T.B. - Health implications of overweight and obesity in the United States. **Ann. Inter. Med.**, 103:983-988, 1985.

VEGT, F.; DEKKER, J.M.; JAGER, A.; HIENKENS, E.; KOSTENSE, P.J.; STEHOUWER, C.D.A.; NIJPELS, G.; BOUTER, L.M.; HEINE, R.J. - Relation of impaired fasting and postload glucose with incident type 2 diabetes in a Dutch population. The Hoorn Study. **JAMA**, 286:2109-2113, 2001.

VUORINEN MARKKOLA, H.; YKI JÄRVINEN, H. - Hyperuricemia and insulin resistance. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 78(1): 25-29, 1994.

WABITSCH, M.; HAUNER, H.; HEINZE, E.; MUCHE, R.; BÖCKMANN, A.; PARTHON, W.; MAYER, H.; TELLER, W. - Body-fat distribution and changes in the atherogenic risk factor profile in obese adolescent girls during weight reduction. **Am. J. Clin. Nutr.**, 60(1): 54-60, 1994.

WALKER, R. J.; LEWIS-BARNED, N. J.; SUTHERLAND, W. H. F.; GOULDING, A.; EDWARDS, A.; DE JONG, N. Z. C. S.; GOLD, E.; WALKER, H. L. – The effects of sequential combined oral 17 β -estradiol norethisterone acetates on insulin sensitivity and body composition in healthy postmenopausal women: a randomized single blind placebo-controlled study. **Menopause**, **8**: 27- 32, 2001.

WALTON, C.; GODSLAND, I. F.; PROUDLER, A. J.; WYNN, V.; STEVENSON, J.C. – The effects of the menopause transition on insulin sensitivity, secretion and elimination in non-obese, healthy women. **Eur. J. Clin. Invest.**, **23**:466- 473, 1993.

WEISSMAN, A. M. – Gynecology: menopause. **University of Iowa Family Practice Handbook. Fourth edition.** Chapter 13, 2001. Web page:

<<http://www.vh.org/Providers/ClinRef/FPHandbook/Chapter13/16-13.html>>

(WHI) Writing group for the women's health initiative investigators. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principl results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. **JAMA**, **288**: 321- 333.

WHO Measuring obesity: classification and distribution of anthropometric data. Copenhagen: **WHO**, 1989 (Nutr UD, EUR/ICP/NUT 125)

WILLIAMSON, D.F. - Epidemiologic analysis of weight gain in US adults. **Nutrition**, **7**:285-286, 1991.

WILLIAMSON, D.F.; KAHN, K.S.; REMINGTON, P.L.; ANDA, R.F. - The 10-year incidence of overweight and major weight gain in adults. **Arch. Inter. Med.**, **150**:665-672, 1990.

WINGROVE, C.S.; WALTON, C.; STEVENSON, J.C. - The effect of menopause on serum uric acid levels in nonobese healthy women. **Metabolism**, **47**(4): 435-438, 1998.

WU, S. I.; CHOU, P.; TSAI, S. T. – The impact of years since menopause on the development of impaired glucose tolerance. **J. Clin. Epidemiol.**, **54**(2): 117- 120, 2001.

YAMASHITA, S.; NAKAMURA, T.; SHIMOMURA, I.; NISHIDA, M.; UOSHIDA, S.; KOTANI, K.; KAMEDA, K.; TOKUNAGA, K.; MATSUZAWA, Y. - Contribution of visceral fat accumulation to the development of insulin resistance and atherosclerosis. **Diabetes Care**, **19**:287-291, 1996.

ZAVARONI, I.; MAZZA, S.; FANTUZZI, M.; DALL'AGLIO, E.; BONORA, E.; DELSIGNORE, R.; PASSERI, M.; REAVEN, G.M. - Changes in insulin and lipid metabolism in males with asymptomatic hyperuricaemia. **J. Intern. Med.**, **234**(1): 24-30, 1993.