

TERESA CRISTINA BARBOSA FERREIRA DA SILVA

**Influência da obesidade e da doença arterial coronária nos
níveis séricos de estrona nas mulheres na pós-menopausa**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Padua Mansur

São Paulo

2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Teresa Cristina Barbosa Ferreira da

Influência da obesidade e da doença arterial coronária nos níveis séricos de estrona nas mulheres na pós-menopausa / Teresa Cristina Barbosa Ferreira da Silva. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Antonio de Padua Mansur.

Descritores: 1.Estrona 2.Pós-menopausa 3.Obesidade 4.Arteriosclerose coronária
5.Estrogênios 6.Índice de massa corporal

USP/FM/SBD-416/06

“ Não há nada de nobre em sermos superiores ao próximo.
A verdadeira nobreza consiste em sermos superiores ao que éramos antes.”

Autor desconhecido

Dedicatória

Aos meus pais, **Amaro** e **Amara**, pela dedicação e amor com que sempre me cercaram.

Ao **Alcides**, meu marido, que sempre me deu força para superar os obstáculos e acreditar na vitória.

Aos meus filhos: **Luís Fernando**, **Gustavo** e **Hugo**, âncoras que me prendem à vida.

Aos meus irmãos: **Beto**, **Nenê** e **Guto**, pelo carinho e amizade.

Agradecimientos

Ao **Professor Doutor Antonio de Padua Mansur**, orientador e amigo, pela presença e apoio constantes durante toda a execução deste estudo.

Ao **Professor Doutor José Antônio Franchini Ramires**, pela confiança, pelas oportunidades que me foram concedidas, e pelo incentivo ao meu crescimento profissional.

Às Unidades Clínicas de Coronariopatia Crônica e Cardiogeriatrics do Instituto do Coração do HCFMUSP, pela oportunidade de desenvolver este trabalho no âmbito de Pós-Graduação.

Aos **Doutores Everli P. S. Gonçalves, José Renato M. Martins, Desidério Favarato, Sérgio Jallad, José Fabri Júnior, Rogério Bicudo Ramos e Marcos Rienzo**, pelo apoio e auxílio nas avaliações das pacientes.

À equipe de trabalho da Sala de Pesquisa Clínica do Instituto do Coração do HCFMUSP, em especial à enfermeira **Vera Lúcia F. de O. Tuda**, pela colaboração durante a coleta de dados.

Às funcionárias **Maria Fernanda de P. Fleury e Regina Célia M. de Oliveira** do Laboratório de Análises Especializadas do Instituto do Coração do HCFMUSP, pelas análises dos níveis séricos de estrona.

Aos funcionários do Laboratório Clínico do Instituto do Coração do HCFMUSP, pelo profissionalismo nas coletas de sangue.

Aos funcionários da Unidade de Atendimento a Pacientes Ambulatoriais do Instituto do Coração do HCFMUSP, em especial a **Sra. Maria de Lourdes Ribeiro** pela competência no agendamento das consultas e exames laboratoriais.

Aos funcionários da Unidade de Informações Médico-hospitalares do Instituto do Coração do HCFMUSP, pelo auxílio e consulta de dados do arquivo.

Ao **Sr. Antonio Sérgio B. de Sousa**, pela elaboração do banco de dados que facilitou a análise estatística.

Ao **Sr. Antonio Giardini**, pela atenção e apoio sempre presentes.

Às **Sras. Neusa Rodrigues Dini, Eva Malheiros Guiss de Oliveira e Juliana Lattari Sobrinho** da Coordenadoria de Pós-Graduação do Instituto do Coração do HCFMUSP, sempre solícitas e atenciosas.

Às pacientes que participaram, meus respeitos e meu muito obrigada, pois sem elas este trabalho não existiria.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a execução de todas as etapas deste trabalho.

Sumário

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	05
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	07
3.1 Delineamento	08
3.2 Critérios de inclusão	09
3.3 Critério de exclusão	10
3.4 Avaliação clínica e exames	10
3.5 Definição dos fatores de risco para doença cardiovascular	11
3.6 Exames laboratoriais	13
3.7 Aspectos éticos	16
3.8 Análise estatística	16
4 RESULTADOS	17
5 DISCUSSÃO	38
5.1 Obesidade e doenças cardiovasculares	39
5.2 Obesidade e estrógenos endógenos	42
5.3 Estrógenos endógenos e doenças cardiovasculares	44
6 CONCLUSÕES	46
7 ANEXO	48
8 REFERÊNCIAS	50

Listas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características clínicas da população	19
Tabela 2 - Medicações nas visitas	20
Tabela 3 - Resultados dos exames laboratoriais	21
Tabela 4 - Comparação entre IMC (normal, sobrepeso e obeso) ...	22
Tabela 5 - Comparação Estrona <25 pg/mL e Estrona ≥25 pg/mL .	23
Tabela 6 - Comparação Estrona <15 pg/mL e Estrona ≥15 pg/mL .	24
Tabela 7 - Comparação entre portadoras de DAC e Alto risco para DCV, Visita 1	25
Tabela 8 - Comparação entre portadoras de DAC e Alto risco para DCV, Visita 2	26
Tabela 9 - Comparação entre portadoras de DAC e Alto risco para DCV, Visita 3	27
Tabela 10- Análise multivariada (IC 95%)	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Correlação entre o índice de massa corpórea (IMC) e os níveis séricos de estrona	29
Figura 2 -	Curva de Kaplan-Meier para eventos cardiovasculares segundo o índice de massa corpórea (IMC): normal, sobrepeso e obeso	30
Figura 3 -	Curva de Kaplan-Meier para mortalidade segundo os níveis séricos de estrona <25 vs ≥25 pg/mL	31
Figura 4 -	Curva de Kaplan-Meier para eventos cardiovasculares segundo os níveis séricos de estrona <25 vs ≥25 pg/mL	32
Figura 5 -	Curva de Kaplan-Meier para mortalidade conforme os níveis séricos de estrona <15 vs ≥15 pg/mL	34
Figura 6 -	Comparação entre portadoras de DAC (DAC=1) e de Alto risco para DCV (DAC=2) com os níveis séricos de estrona na visita 1	36
Figura 7 -	Comparação entre portadoras de DAC (DAC=1) e de Alto risco para DCV (DAC=2) com os níveis séricos de estrona na visita 2	37
Figura 8 -	Comparação entre portadoras de DAC (DAC=1) e de Alto risco para DCV (DAC=2) com os níveis séricos de estrona na visita 3	37

Resumo

Silva TCBF. *Influência da obesidade e da doença arterial coronária nos níveis séricos de estrona nas mulheres na pós-menopausa* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 61p.

INTRODUÇÃO: Estudos recentes mostraram maior mortalidade em indivíduos nos extremos dos valores do índice de massa corpórea (IMC). Discute-se, também, a intensidade da influência da obesidade na mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV), em mulheres na pós-menopausa, e da participação dos estrógenos endógenos. Neste trabalho, analisamos, prospectivamente, a influência da obesidade e os níveis séricos de estrona nos principais fatores de risco em mulheres na pós-menopausa com doença arterial coronária (DAC), ou de alto risco para DAC, matriculadas no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo, realizado entre março de 2004 e setembro de 2006, em 251 mulheres na pós-menopausa com alto risco para eventos cardiovasculares, na ausência de reposição hormonal. Foram estudadas, em 3 visitas semestrais (V1-basal, V2 e V3), as características clínicas (pressão arterial, índice de massa corpórea, fatores de risco para DCV, medicação utilizada, e ocorrência de eventos neste período) e as laboratoriais [glicemia, perfil lipídico, inflamatórias (análise PCR ultra-sensível), bem como e os níveis de estrógeno endógeno (estrona)]. Foram classificadas, segundo o IMC (kg/m^2), em normal ($18,5 \leq \text{IMC} < 25$), sobrepeso ($25 \leq \text{IMC} < 30$) e obesa (≥ 30), e também os níveis de estrona ($< 15 \geq$ e $< 25 \geq \text{pg/mL}$). Foram realizadas as análises univariada, curvas de Kaplan-Meier para mortalidade, segundo os níveis de estrona, e regressão multivariada de Cox. **RESULTADOS:** Não houve diferenças entre os grupos com relação à idade (71 ± 8 vs 70 ± 7 vs 69 ± 6 anos; $p=0,112$). O aumento do IMC associou-se a maior prevalência de hipertensão arterial sistêmica (HAS) (81% vs 96% vs 100% ; $p < 0,01$), diabetes melito (38% vs 52% vs 69% ; $p=0,001$), e níveis de estrona ($22,3 \pm 11$ vs $22,4 \pm 9,4$ vs $28,2 \pm 16,4$ pg/mL ; $p=0,002$). Menores níveis de HDL (58 ± 15 vs 53 ± 12 vs 50 ± 11 mg/dl ; $p=0,009$) e LDL (123 ± 30 vs 115 ± 38 vs 107 ± 36 mg/dl ; $p=0,039$). Os níveis de PCR permaneceram inalterados ($0,38 \pm 0,33$ vs $0,79 \pm 1,81$ vs $0,63 \pm 0,57$ mg/dl ; $p=0,180$) e houve tendência de maiores níveis de triglicérides (143 ± 81 vs 167 ± 80 vs 191 ± 149 mg/dl ; $p=0,061$). Níveis séricos de estrona ≥ 25 pg/mL foram observados nas pacientes com maiores níveis de pressão arterial sistólica (140 ± 18 vs 145 ± 18 mmHg ; $p=0,031$), pressão arterial diastólica (82 ± 10 vs 85 ± 9 mmHg ; $p=0,003$), e maiores níveis de glicemia (123 ± 48 vs 146 ± 67 mg/dl ; $p=0,003$), com menor prevalência de DAC (81% vs 67% ; $p=0,010$). Para o seguimento de $1,99 \pm 0,54$ anos, observou-se aumento gradativo dos níveis de estrona (V1= 25 ± 13 , V2= 31 ± 14 , V3= 33 ± 17 pg/mL ; $p < 0,01$). A incidência de eventos cardiovasculares, segundo os níveis de estrona < 25 vs ≥ 25 pg/mL , foi semelhante nos dois grupos analisados, e aconteceram no tempo médio de seguimento de $0,62 \pm 0,46$ anos. Ocorreram 14 óbitos, sendo 8 por DCV, e 6 por outras causas. A curva de Kaplan-Meier mostrou uma tendência ($p=0,074$) de maior mortalidade, conforme os níveis de estrona $< 15 \geq$ pg/mL .

A idade [OR=1,08 (IC95%:1,01-1,18); p=0,037], PCR [OR=1,24 (IC95%:1,03-1,50); p=0,024] e HAS [6,22 (IC95%:1,86-20,81); p=0,003] foram as variáveis independentes para mortalidade. Conclusões: Nível sérico de estrona, para valor ≥ 25 pg/mL, associou-se a menor prevalência de DAC, porém, não influenciou na incidência de eventos cardiovasculares, nem na mortalidade. Observou-se uma tendência de maior mortalidade em mulheres com níveis de estrona ≤ 15 pg/mL. Na divisão em normal, sobrepeso e obesa observamos padrão de síndrome metabólica nas pacientes.

Descritores: 1.Estrona 2.Pós-menopausa 3.Obesidade 4.Arteriosclerose coronária 5.Estrogênios 6.Índice de massa corporal

Summary

Silva TCBF. *Influence of the obesity and coronary artery disease in blood levels of estrone in postmenopausal women* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2006. 61p.

INTRODUCTION: Recent studies showed higher mortality in people with extreme values of body mass index (BMI). The obesity's influence intensity in mortality associated with cardiovascular diseases (CVD) in postmenopausal women and the participation of the endogenous estrogens are unknown. In this study we analysed the influence of BMI and blood levels of estrone in the main risk factors for postmenopausal women (registered on the Heart Institute, University of São Paulo Medical School) with coronary artery disease (CAD) or with high risk for CVD. **METHODS:** Prospective study performed between March/2004 and September/2006, in 251 postmenopausal women with high risk for cardiovascular events in the absence of hormonal therapy. They were studied, in 3 biannual visits (V1-baseline, V2 and V3), clinical characteristics (blood pressure, BMI, risk factors for CVD, medication in use and events occurred during this period), laboratories exams [glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, C-reactive protein and blood levels of endogenous estrogen (estrone)]. They were classified according to the BMI (kg/m^2) in normal ($18,5 \leq \text{IMC} < 25$), overweight ($25 \leq \text{IMC} < 30$) and obese (≥ 30) and blood levels of estrone ($< 15 \geq$ and $< 25 \geq$ pg/mL). Univariate analysis, Kaplan-Meier estimation curves according to the blood levels of estrone and the Cox multivariate regression were done. **RESULTS:** No differences were seen among the groups regarding age (71 ± 8 vs 70 ± 7 vs 69 ± 6 years; $p=0,112$). The increase of BMI was associated with higher prevalence of hypertension (81% vs 96% vs 100% ; $p < 0,01$), diabetes melito (38% vs 52% vs 69% ; $p=0,001$) and blood levels of estrone ($22,3 \pm 11$ vs $22,4 \pm 9,4$ vs $28,2 \pm 16,4$ pg/mL; $p=0,002$); lower levels of HDL-cholesterol blood (58 ± 15 vs 53 ± 12 vs 50 ± 11 mg/dL; $p=0,009$) and LDL-cholesterol (123 ± 30 vs 115 ± 38 vs 107 ± 36 mg/dL; $p=0,039$). The levels of C-reactive protein remained unchanged ($0,38 \pm 0,33$ vs $0,79 \pm 1,81$ vs $0,63 \pm 0,57$ mg/dL; $p=0,180$) and a trend of higher levels of triglycerides (143 ± 81 vs 167 ± 80 vs 191 ± 149 mg/dL; $p=0,061$). Blood level of estrone ≥ 25 pg/mL was observed in pacientes with higher level of systolic blood pressure (SBP) (140 ± 18 vs 145 ± 18 mmHg; $p=0,031$), diastolic blood pressure (DBP) (82 ± 10 vs 85 ± 9 mmHg; $p=0,003$) and higher levels of glucose (123 ± 48 vs 146 ± 67 mg/dL; $p=0,003$), with lower prevalence of CHD (81% vs 67% ; $p=0,010$). During the follow-up of $1,99 \pm 0,54$ years was noticed a gradual increase of blood level of estrone (V1= 25 ± 13 , V2= 31 ± 14 , V3= 33 ± 17 pg/mL; $p < 0,01$). The incidence of cardiovascular events according to the blood levels of estrone < 25 vs ≥ 25 pg/mL was similar in the two groups and occurred during the follow-up period of $0,62 \pm 0,46$ years. Were reported 14 deaths: 8 associated with CVD and 6 related to another causes. The Kaplan-Meier estimation curve showed a trend ($p=0,074$) of greater mortality for CVD according the blood level of estrone of $< 15 \geq 15$ pg/mL. The age [OR=1,08 (IC95%:1,01-1,18); $p=0,037$], C-reactive protein [OR=1,24 (IC95%:1,03-1,50); $p=0,024$] and hypertension [6,22 (IC95%:1,86-

20,81);p=0,003] were independent variables for mortality. CONCLUSIONS: Blood level of estrone for readings of ≥ 25 pg/mL, can be associated with smaller prevalence of CAD, but had no impact in cardiovascular events and mortality. We noticed a trend of greater mortality in women with estrone level lower than 15 pg/mL.

Descriptors: 1.Estrone 2.Postmenopause 3.Obesity 4.Coronary arteriosclerosis 5.Estrogens 6.Body mass index

1 Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causa de morte no Brasil.¹ Em algumas regiões, em especial no Nordeste, e em algumas capitais, inclusive na cidade de São Paulo, a mortalidade por doença arterial coronária (DAC) vem aumentando nas mulheres.^{2,3}

O mecanismo etiopatológico básico envolvido nas doenças cardiovasculares é o processo da aterosclerose⁴. Este sofre importante influência dos fatores de risco tradicionais: obesidade, tabagismo, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica (HAS) e diabetes⁵. Quanto maior o número e a intensidade dos fatores de risco, maior a progressão e complicações do processo da aterosclerose. A prevalência de DAC nas mulheres na pré-menopausa é menor quando comparado com a fase de pós-menopausa, quando a ocorrência de doenças cardiovasculares é significativamente maior, sugerindo que os estrógenos naturais tenham um envolvimento neste processo.⁶

Os três principais estrógenos endógenos são o estradiol, a estrona e o estriol. O estradiol é o estrógeno predominante na pré-menopausa, produzido, preferencialmente, no tecido ovariano. Na pós-menopausa, com a acentuada insuficiência ovariana, o estrógeno endógeno agora predominante é a estrona, produzida por vários tecidos, sendo o adiposo um

dos mais importantes. A estrona é resultante da aromatização da androstenediona.⁷

A ação dos estrógenos faz-se pela ativação de receptores específicos alfa ($ER\alpha$) e beta ($ER\beta$). A atividade de ligação ao receptor é maior com o 17β -estradiol, sendo que a estrona possui em torno de, respectivamente, 60% e 37% da atividade do 17β -estradiol nos $ER\alpha$ e $ER\beta$.⁸ Estudo mais recente mostrou menor atividade da estrona, cerca de 10% da atividade do 17β -estradiol, no receptor alfa do estrógeno, e ainda menor no receptor beta do estrógeno.⁹ Sabe-se, também, que na pós-menopausa ocorre uma redução dos receptores alfa e beta do estrógeno, redução essa menor nas mulheres obesas, para ambos os receptores. Contudo, por mecanismos diretos ou indiretos, o estrógeno mostrou-se protetor para o sistema cardiovascular.

Os estrógenos favorecem a melhora do perfil lipídico, metabolismo da glicose, além de ter ação direta no sistema vascular.¹⁰ Podem aumentar a vasodilatação arterial, inibindo a resposta celular na injúria vascular, prevenindo, assim, a aterosclerose. Exercem efeitos endotelial sistêmico e tissular, mediados pelos receptores estrogênicos $ER\alpha$ e $ER\beta$ presentes nas células musculares lisas e endoteliais dos vasos.¹¹

Estes benefícios na pré-menopausa justificariam a proteção de 7 a 10 anos das mulheres na incidência da DAC, e a menor intensidade da doença aterosclerótica em mulheres na pós-menopausa.^{12,13} Porém, a exposição ao estrógeno na pré-menopausa não explica totalmente a proteção das

mulheres, na pós-menopausa, ao processo da aterosclerose. Da mesma forma, estudos anteriores mostraram resultados conflitantes sobre a importância da obesidade na mortalidade por DCV.^{14,15,16}

A literatura reconhece sua relação direta ou indireta com o aumento da incidência de doenças crônicas, como as moléstias cardiocirculatórias que se associam à hipertensão arterial, diabetes melito não insulino-dependentes, dislipidemias, colecistopatias, esteatose hepática, e artropatias degenerativas, e sua influência no risco de câncer de mama, endométrio, vesícula biliar e cólon.¹⁷ Associado a esta também está a síndrome metabólica, a qual se relaciona com o aumento de DCV e mortalidade por todas as causas.¹⁸

Vários estudos citam a obesidade como um problema de saúde pública de proporções epidêmicas, e que afetam tanto homens como mulheres de todas as idades e grupos étnicos, contribuindo para o aumento da morbidade e mortalidade. Obesidade e sobrepeso estão associados com a diminuição da expectativa de vida e o aumento da morte precoce.^{19,20}

A influência da estrona e de um possível maior nível deste estrógeno endógeno nas mulheres obesas na pós-menopausa, na proteção para as DCV, são as principais hipóteses deste estudo. Portanto, questiona-se se os maiores níveis séricos de estrona não seria um mecanismo compensatório protetor da obesidade para as DCV e a mortalidade em geral.

2 Objetivos

- 1- Analisar a influência da obesidade nos níveis séricos de estrona nas mulheres na pós-menopausa com DAC, ou de alto risco para eventos cardiovasculares.
- 2- Analisar a associação entre níveis séricos de estrona e DAC.
- 3- Analisar, prospectivamente, a incidência de eventos cardiovasculares, segundo o índice de massa corpórea (IMC) e níveis séricos de estrona.
- 4- Analisar, prospectivamente, a mortalidade total segundo o IMC e os níveis séricos de estrona.

3 *Casuística e Métodos*

3.1 Delineamento

Estudo longitudinal analisou a influência dos níveis séricos de estrona no prognóstico de 251 mulheres na pós-menopausa, obesas e não obesas, com doença arterial coronária (DAC), ou de alto risco para DCV. Para a categorização em alto risco para DCV utilizou-se sistema de pontos (4 ou mais)²¹, segundo os critérios abaixo relacionados:

- DAC estável (4 pontos)
- doença arterial de extremidades (4 pontos)
- diabetes melito (3 pontos)
- idade maior ou igual a 70 anos (2 pontos)
- hipertensão arterial sistêmica (1 ponto)
- dislipidemia (1 ponto)
- fumante (1 ponto)

As pacientes foram selecionadas junto ao ambulatório da Unidade Clínica de Coronariopatia Crônica e na Unidade Clínica de Cardiogeriatría do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), e foram acompanhadas através de avaliações semestrais sendo uma avaliação

inicial (visita 1), outra após 6 meses (visita 2), e avaliação de 1 ano (visita 3), no período de março de 2004 a setembro de 2006.

3.2 Critérios de Inclusão

- Mulheres na pós-menopausa. Menopausa definida como a permanente parada da função ovariana e o fim da idade reprodutiva da mulher, sendo reconhecida quando ocorrer 12 meses consecutivos de amenorréia, não tendo uma causa patológica ou fisiológica associada - menopausa natural ou remoção cirúrgica dos ovários com ou sem histerectomia, ou ablação da função ovariana (ex. quimioterapia, radiação) – menopausa induzida. O estado de pós-menopausa foi definido como período após a data da última menstruação²².
- Mulheres portadoras de DAC, definida como um estreitamento maior que 50% de pelo menos uma artéria coronária maior (tronco de coronária esquerda, ramo interventricular anterior, artéria circunflexa ou coronária direita), documentada angiograficamente, ou portadoras de angina de peito típica aos grandes (classe I) ou médios esforços (classe II), da Canadian Cardiovascular Society²³.
- Mulheres com alto risco para DAC que apresentem um ou mais dos seguintes fatores de risco tradicionais: hipertensão arterial sistêmica, hiperlipidemia, tabagismo e diabetes melito.

- Aceitar participar do estudo, com assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

3.3 Critério de Exclusão

- Foram excluídas as pacientes com terapia de reposição hormonal e doença em estágio avançado ou clinicamente limitante.

3.4 Avaliação Clínica e Exames

Foram obtidos os dados clínicos das pacientes na visita 1, os quais incluíam: nome, número de matrícula InCor, endereço, telefone de contato, data de nascimento, ano de menopausa, peso, altura, índice de massa corpórea, pressão arterial, fatores de risco tradicionais para as doenças cardiovasculares, medicação atual, e procedimentos cardiológicos prévios, tais como angioplastia e revascularização do miocárdio (anexo). Em seguida, amostras de sangue foram obtidas, após jejum de 12 horas, de todas as pacientes para dosagem inicial de glicemia, colesterol, HDL, LDL,

triglicérides, proteína C reativa (PCR), e estrona. Avaliações de seguimento foram realizadas nos intervalos de 6 meses (visita 2) e 1 ano (visita 3), com atualização dos dados clínicos: peso, altura, IMC(kg/m²), pressão arterial, medicação em uso e eventos cardiológicos, ou outros significativos que tivessem surgido desde a última avaliação. Novas amostras de sangue foram obtidas para análise.

3.5 Definição dos fatores de risco para doença cardiovascular

Foram considerados como principais fatores de risco para a DCV:

- Diabetes melito – níveis de glicose no sangue ≥ 126 mg/dL, após jejum noturno de 12 horas.²⁴
- Hipertensão arterial sistêmica (HAS) – o diagnóstico de hipertensão arterial foi baseado na pressão arterial diastólica com níveis ≥ 90 mmHg.²⁵
- Dislipidemia: níveis séricos de triglicérides maior que 200 mg/dL, e/ou colesterol total maior que 240 mg/dL, e/ou HDL-colesterol abaixo de 40 mg/dL, e/ou LDL-colesterol acima de 130 mg/dL.²⁶

- Tabagismo – hábito de fumar qualquer tipo ou quantidade de tabaco, diariamente, por pelo menos seis meses.²⁷
- Obesidade – O diagnóstico de obesidade foi feito pela medição do índice de massa corpórea (IMC), obtido pela divisão do peso, em quilogramas, e pelo quadrado da altura, em metros ($IMC=kg/m^2$). Os valores de referência foram os utilizados pelo National Institute of Health e o World Health Organization.²⁸

Classificação	IMC (kg/m²)
Baixo peso	<18,5
Normal	18,5-24,9
Sobrepeso	≥25
Pré-obeso	25-29,9
Obeso classe I	30-34,9
Obeso classe II	35-39,9
Obeso classe III	≥40

3.6 Exames Laboratoriais

O sangue foi colhido pela manhã, após período de 12 horas de jejum.

As dosagens foram realizadas pelo Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração do HCFMUSP, e analisadas através dos seguintes métodos:

- Glicemia – Foi usado o método enzimático, automatizado, sendo utilizado reagente da marca “Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha”, tendo como valores de referência os recomendados pela Associação Americana de Diabetes²⁴:

Valor (mg/dL)	Categoria
70 a 99	Normal
100 a 125	Inapropriada
≥ 126	Elevada

- Perfil lipídico – Foi usado o método colorimétrico enzimático homogêneo, sendo utilizado reagente da marca “Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha”, tendo como valores de referência os recomendados pelas Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias²⁶:

Lípides	Valor (mg/dL)	Categoria
Colesterol total	< 200	Ótimo
	200 a 239	Limítrofe
	≥ 240	Alto
Triglicérides	< 150	Ótimo
	150 a 200	Limítrofe
	200 a 499	Alto
	≥ 500	Muito alto
HDL-colesterol	< 40	Baixo
	> 60	Alto
LDL-colesterol	< 100	Ótimo
	100 a 129	Desejável
	130 a 159	Limítrofe
	160 a 189	Alto
	≥ 190	Muito alto

- Proteína C reativa – Foi usado o método imunoturbidimétrico com detecção ultra-sensível, utilizado reagente da marca “Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha”, tendo como valor de referência: inferior a 0,5 mg/dL.

- Estrona – Foi usado o método de radioimunoensaio, com Kit marca “DSL 8700 da Diagnostic Systems Laboratories, Inc.”, Webster, Texas, USA; com processamento manual, com valores de referência entre 14,1–102,6 pg/mL na fase de pós-menopausa, sem reposição de estrógeno.

Conforme o nível sérico de estrona, foram feitas duas análises:

I – estrona < 25 pg/mL (152 pacientes) e estrona ≥ 25 pg/mL (99 pacientes).

II – estrona < 15 pg/mL (43 pacientes) e estrona ≥ 15 pg/mL (208 pacientes).

O grupo de pacientes foi subdividido em portadoras de DAC e em Alto Risco para DCV, nas visitas que foram realizadas, para posterior análise:

	Portadoras de DAC	Alto Risco para DCV
Visita 1	189	62
Visita 2	188	61
Visita 3	178	60

3.7 Aspectos Éticos

As pacientes consentiram em participar do protocolo de pesquisa, devidamente aprovado pela Comissão Científica do Instituto do Coração (InCor) e pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Protocolo N° 167/03), sendo patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo–FAPESP com registro 03/127152.

3.8 Análise Estatística

Para um estudo longitudinal, o número total de indivíduos, para uma incidência de 20% no número de eventos cardiovasculares entre o grupo de obesos e o grupo de não obesos, com nível de significância de $p < 0,05$ e poder do teste de 0,80, deverá ser de 200, sendo 100 indivíduos para o grupo de obesos e 100 para o grupo de não obesos. Os resultados obtidos das análises clínicas laboratoriais foram analisados pelo teste do χ^2 para variáveis categóricas, pelos testes t-student e ANOVA -2 Way, por medidas repetidas, para variáveis contínuas e teste de correlação. Utilizou-se o teste de Kaplan-Meier para análise longitudinal de eventos cardiovasculares. A análise multivariada foi realizada pelo método de regressão de Cox.

O software estatístico utilizado foi o **SAS** versão 9.1.

4 Resultados

O tempo de seguimento foi de 0,32 à 2,67 anos, média de $1,99 \pm 0,54$ anos. As características clínicas para as visitas de 1 a 3 encontram-se na Tabela 1. As variáveis analisadas foram semelhantes para as três visitas, exceto para os níveis de pressão arterial sistólica das pacientes, nas visitas 1 e 3 ($141,8 \pm 18,4$ vs $137,3 \pm 18,6$; $p=0,013$).

Tabela 1 - Características clínicas da população

	VISITA 1	VISITA 2	VISITA 3
	N=251 (%)	N=249 (%)	N=238 (%)
Idade (anos)	69,7±7,0	70,2±6,9	70,7±7,0
Peso (kg)	68,9±13,6	68,9±13,5	68,7±13,5
Altura (m)	1,5±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1
IMC (kg/m ²)	29,7±5,3	29,6±5,3	29,6±5,3
PAS (mmHg)	141,8±18,4	140,2±20,1	137,3±18,6*
PAD (mmHg)	83±9,9	81,7±9,1	81,24±8,4
HAS	238 (95)	237 (95)	228 (96)
Diabetes Melito	144 (57)	143 (57)	137 (58)
Dislipidemia	233 (93)	231 (93)	221 (93)
AF	77 (31)	77 (31)	72 (30)
Fumante	25 (10)	25 (10)	24 (10)
DAC	189 (75)	188 (76)	177 (74)
IAM	92 (37)	94 (37)	97 (39)
RM	69 (27)	72 (29)	72 (29)
Angioplastia	63 (25)	65 (26)	65 (26)
Assintomático	207 (82)	205 (82)	210 (84)

Média±DP; AF=antecedentes familiares; DAC=doença arterial coronária; HAS=hipertensão arterial sistêmica; IAM=infarto agudo do miocárdio; IMC=índice de massa corpórea; PAD=pressão arterial diastólica; PAS=pressão arterial sistólica; RM=revascularização do miocárdio; *=Visita1 vs Visita 3 (p=0,013).

As medicações usadas nas três visitas encontram-se na Tabela 2. Não foram observadas diferenças entre as mesmas.

Tabela 2 - Medicações nas visitas

	VISITA 1	VISITA 2	VISITA 3
	N=251 (%)	N=249 (%)	N=238 (%)
Beta-Bloqueador	155 (62)	155 (62)	159 (67)
Bloqueador de Cálcio	71 (28)	72 (29)	67 (28)
AAS	193 (77)	194 (78)	195 (82)
IECA	158 (63)	159 (64)	155 (65)
Nitrato	95 (38)	89 (36)	88 (37)
Diurético	169 (67)	169 (68)	168 (71)
Hipolipemiante	232 (92)	234 (94)	237 (99)
Digoxina	16 (6)	16 (6)	15 (6)
Hipoglicemiante	141 (56)	138 (55)	134 (56)

AAS=ácido acetil-salicílico; IECA=inibidores da enzima de conversão da angiotensina.

Os resultados dos exames laboratoriais analisados (perfil lipídico, glicemia, proteína C reativa, estrona) mantiveram-se semelhantes nas três visitas, exceto um aumento crescente do nível sérico de estrona (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados dos exames laboratoriais

	VISITA 1	VISITA 2	VISITA 3
	N=251	N=249	N=238
TG (mg/dL)	173,4±116,1	167,1±90,3	174,4±118,9
Colesterol (mg/dL)	199,3±41,1	194,5±41	195,9±45,6
HDL (mg/dL)	52,8±12,5	53,1±14,5	51,6±12,6
LDL (mg/dL)	112,7±36	108,2±34,5	110,2±35,3
Glicose (mg/dL)	132,2±56,9	129,6±53,3	128,5±50,4
PCR (mg/dL)	0,65±1,22	0,50±0,71	0,59±1,29
Estrona (pg/mL)	24,9±13,4	30,5±13,9	32,7±16,6*

Média±DP; PCR=proteína C reativa; TG= triglicérides; *=Visita 1 vs Visita 2 (p<0,05) e Visita 1 vs Visita 3 (p<0,05).

Observou-se, no grupo das pacientes obesas (Tabela 4), maior prevalência de HAS (81% vs 96% vs 100%; $p < 0,0001$); diabetes melito (38% vs 52% vs 69%; $p = 0,001$); maiores níveis séricos de estrona nas Visita 1 vs Visita 3 ($22,3 \pm 11$ vs $28,2 \pm 16,4$ pg/mL; $p < 0,05$) e Visita 2 vs Visita 3 ($22,4 \pm 9,4$ vs $28,2 \pm 16,4$ pg/mL; $p < 0,05$); menores níveis de HDL na Visita 1 vs Visita 2 ($57,8 \pm 15,4$ vs $52,8 \pm 11,9$ mg/dL; $p < 0,05$) e Visita 1 vs Visita 3 ($57,8 \pm 15,4$ vs $50,9 \pm 11,3$ mg/dL; $p < 0,05$); e LDL na Visita 1 vs Visita 3 ($123,1 \pm 30,2$ vs $107 \pm 35,6$ mg/dL; $p < 0,05$). Tendência de maiores níveis de triglicérides ($143,2 \pm 80,8$ vs $167,3 \pm 80,4$ vs $190,9 \pm 149,2$ mg/dL; $p = 0,061$).

Tabela 4 - Comparação entre IMC (normal, sobrepeso e obeso)

	NORMAL 18,5 ≤ IMC < 25 N=42(17%)	SOBREPESO 25 ≤ IMC < 30 N=101(40%)	OBESO IMC ≥ 30 N=108(43%)	p
Idade (anos)	71 ± 7,8	70,2 ± 7,2	68,7 ± 6,3	0,112
HAS	34 (81)	97 (96)	108 (100)	<0,001
Diabetes melito	16 (38)	53 (52)	75 (69)	0,001
DAC	27(64)	79(78)	83(77)	0,188
TG (mg/dL)	143,2 ± 80,8	167,3 ± 80,4	190,9 ± 149,2	0,061
Colesterol (mg/DI)	208,7 ± 32,4	200,5 ± 44,9	194,7 ± 39,9	0,160
HDL (mg/dL)	57,8 ± 15,4	52,8 ± 11,9	50,9 ± 11,3	0,009*
LDL (mg/dL)	123,1 ± 30,2	114,5 ± 37,8	107 ± 35,6	0,039†
Glicose (mg/dL)	125,4 ± 59,7	129,9 ± 56,4	136,9 ± 56,3	0,471
PCR (mg/dL)	0,38 ± 0,33	0,79 ± 1,81	0,63 ± 0,57	0,180
Estrona (pg/mL)	22,3 ± 11	22,4 ± 9,4	28,2 ± 16,4	0,002‡

Média±DP; HAS=hipertensão arterial sistêmica; PCR=proteína C reativa; TG=triglicérides; *=Visita 1 vs Visita 2 e Visita 1 vs Visita 3 ($p = 0,009$); †=Visita 1 vs Visita 3 ($p = 0,039$); ‡=Visita 1 vs Visita 3 e Visita 2 vs Visita 3 ($p = 0,002$).

Na tabela 5, as pacientes foram agrupadas segundo os níveis séricos de estrona em <25 e ≥25 pg/mL. Maior IMC (29±4,7 vs 30,7±5,9; p=0,018); maior prevalência de diabetes melito (51% vs 67%; p=0,016); menor prevalência de DAC (81% vs 67%; p=0,010); maiores níveis de PAS (139,7±18,3 vs 144,8±18,1 mmHg; p=0,031); PAD (81,5±10 vs 85,2±9,3 mmHg; p=0,003); e níveis séricos de glicose (123,1±47,7 vs 146±66,5 mg/dL; p=0,003) foram observados no grupo com estrona ≥25 pg/mL.

Tabela 5 - Comparação Estrona <25 pg/mL e Estrona ≥25 pg/mL

	ESTRONA<25pg/mL N = 152 (61%)	ESTRONA≥25pg/mL N = 99 (39%)	p
Idade (anos)	70,4 ± 7,2	68,7 ± 6,4	0,059
IMC (kg/m ²)	29 ± 4,7	30,7 ± 5,9	0,018
HAS	143 (94)	95 (96)	0,511
Diabetes melito	78 (51)	66 (67)	0,016
Dislipidemia	142 (93)	91 (92)	0,652
A F	50 (33)	27 (27)	0,345
Tabagismo	16 (11)	9 (9)	0,710
DAC	123 (81)	66 (67)	0,010
PAS (mmHg)	139,7 ± 18,3	144,8 ± 18,1	0,031
PAD (mmHg)	81,5 ± 10	85,2 ± 9,3	0,003
TG (mg/dL)	164,7 ± 123,5	186,7 ± 103	0,129
Colesterol (mg/dL)	198,5 ± 37,5	200,7 ± 46,2	0,695
HDL (mg/dL)	52,7 ± 12,2	53 ± 13	0,858
LDL (mg/dL)	113,4 ± 33,8	111,6 ± 39,3	0,696
Glicose (mg/dL)	123,1 ± 47,7	146 ± 66,5	0,003
PCR (mg/dL)	0,56 ± 1,35	0,80 ± 0,97	0,104

Média±DP; AF=antecedentes familiares; DAC=doença arterial coronária; HAS=hipertensão arterial sistêmica; IMC=índice de massa corpórea; PAD=pressão arterial diastólica; PAS=pressão arterial sistólica; PCR=proteína C reativa; TG=triglicérides.

Em nova subdivisão do nível de estrona em <15 e ≥15 pg/mL (Tabela 6), os maiores níveis do hormônio foram observados nas pacientes de menor idade (72±7,5 vs 69,2±6,7; p=0,016); maior prevalência de HAS (88% vs 96%; p=0,036); diabetes melito (37% vs 62%; p=0,003); maior IMC (27,9±4,6 vs 30±5,4 kg/m²; p=0,020); maiores níveis de triglicérides (148,9±63,1 vs 178,5±123,8 mg/dL; p=0,023); glicose (107,5±32,8 vs 137,3±59,5 mg/dL; p=0,002); e PCR (0,45±0,55 vs 0,70±1,31 mg/dL; p=0,045).

Tabela 6 - Comparação Estrona <15 pg/mL e Estrona ≥15 pg/mL

	ESTRONA<15pg/mL	ESTRONA≥15pg/mL	p
	N= 43 (17%)	N= 208 (83%)	
Idade (anos)	72 ± 7,5	69,2 ± 6,7	0,016
IMC (kg/m ²)	27,9 ± 4,6	30 ± 5,4	0,020
HAS	38 (88)	200 (96)	0,036
Diabetes melito	16 (37)	128 (62)	0,003
Dislipidemia	40 (93)	193 (93)	0,956
A F	12 (28)	65 (31)	0,665
Tabagismo	4 (9)	2 (1)	0,874
DAC	35 (81)	154 (74)	0,308
PAS (mmHg)	137,7 ± 21,2	142,6 ± 17,7	0,110
PAD (mmHg)	80,7 ± 10,8	83,5 ± 9,6	0,092
TG (mg/dL)	148,9 ± 63,1	178,5 ± 123,8	0,023
Colesterol (mg/dL)	200,7 ± 40,7	199 ± 41,2	0,808
HDL (mg/dL)	54,8 ± 13,1	52,4 ± 12,3	0,247
LDL (mg/dL)	116,1 ± 37,8	112 ± 35,7	0,496
Glicose (mg/dL)	107,5 ± 32,8	137,3 ± 59,5	0,002
PCR (mg/dL)	0,45 ± 0,55	0,70 ± 1,31	0,045

Média±DP; AF=antecedentes familiares; DAC=doença arterial coronária; HAS=hipertensão arterial sistêmica; IMC=índice de massa corpórea; PAD=pressão arterial diastólica; PAS=pressão arterial sistólica; PCR=proteína C reativa; TG=triglicérides.

Entre as pacientes de alto risco para DCV, na Visita 1, encontramos maior prevalência de diabetes melito (51% vs 77%; $p>0,001$), menor prevalência de dislipidemia (95% vs 86%; $p=0,010$), menores níveis de PAD ($83,7\pm 9$ vs $80,9\pm 8$ mmHg; $p=0,040$), menores níveis de PAS ($127,7\pm 48,4$ vs $146\pm 55,5$ mg/dL; $p=0,05$); e estrona ($23,6\pm 11,7$ vs $28,8\pm 12,2$ pg/mL; $p=0,008$), conforme visto na Tabela 7.

Tabela 7 - Comparação entre portadoras de DAC e Alto risco para DCV, Visita 1

VISITA 1	DAC	ALTO RISCO PARA DCV	p
	N=189 (%)	N=62 (%)	
Idade (anos)	69,2±6,5	71,1±5,4	0,067
IMC (kg/m ²)	29,7±4,7	29,6±4,9	0,983
HAS	180 (95)	58 (94)	0,602
Diabetes melito	96 (51)	48 (77)	<0,001
Dislipidemia	180(95)	53 (86)	0,010
Tabagismo	17(9)	8(13)	0,373
PAS (mmHg)	142,4±17,9	139,8±11,8	0,264
PAD (mmHg)	83,7±9	80,9±8	0,040
TG (mg/dL)	176,2±112,9	165,1±73,9	0,440
Colesterol (mg/dL)	199,3±40,2	198,5±25,4	0,820
HDL (mg/dL)	52±10,2	55,3±13,3	0,134
LDL (mg/dL)	113,5±34,5	110,5±25	0,526
Glicose (mg/dL)	127,7±48,4	146±55,5	0,05
PCR (mg/dL)	0,66±1,06	0,62±1,17	0,822
Estrona (pg/mL)	23,6±11,7	28,8±12,2	0,008

Média±DP; HAS=hipertensão arterial; IMC=índice de massa corpórea; PAD=pressão arterial diastólica; PAS=pressão arterial sistólica; PCR=proteína C reativa; TG=triglicérides.

Na Tabela 8, observamos apenas um dado significativo, a saber, as pacientes de alto risco para DCV apresentaram maiores níveis séricos de estrona ($28,5 \pm 10,5$ vs $36,7 \pm 15,3$ pg/mL; $p=0,001$) na Visita 2.

Tabela 8 - Comparação entre portadoras de DAC e Alto risco para DCV, Visita 2

VISITA 2	DAC	ALTO RISCO PARA DCV	p
	N=188 (%)	N=61 (%)	
Idade (anos)	69,8±6,4	71,5±5,5	0,068
IMC (kg/m ²)	29,7±4,7	29,6±4,8	0,869
PAS (mmHg)	140,5±18,8	139,2±15,5	0,629
PAD (mmHg)	82,1±8,5	80,6±6,8	0,220
TG (mg/dL)	164,7±78,4	174,3±86,2	0,509
Colesterol (mg/dL)	193,3±39,3	198±28,1	0,376
HDL (mg/dL)	51,9±10,5	56,5±17,5	0,107
LDL (mg/dL)	108,5±32,5	107,2±26	0,790
Glicose (mg/dL)	123,4±45,6	148,3±49,6	0,129
PCR (mg/dL)	0,51±0,71	0,45±0,36	0,471
Estrona (pg/mL)	28,5±10,5	36,7±15,3	0,001

Média±DP; IMC=índice de massa corpórea; PAD=pressão arterial diastólica; PAS=pressão arterial sistólica; PCR=proteína C reativa; TG=triglicérides.

Na Tabela 9, as pacientes de alto risco para DCV, na Visita 3, apresentaram maiores níveis de HDL ($50,1\pm 9,4$ vs $56\pm 14,3$ mg/dL; $p=0,012$), glicose ($121,9\pm 37,5$ vs $148,3\pm 57,3$ mg/dL; $p=0,006$), e estrona ($31,3\pm 15$ vs $36,9\pm 13,7$ pg/mL; $p=0,022$).

Tabela 9 - Comparação entre portadoras de DAC e Alto risco para DCV, Visita 3

VISITA 3	DAC	ALTO RISCO PARA DCV	p
	N=178 (%)	N=60 (%)	
Idade (anos)	70,2±6,5	72,1±5,4	0,284
IMC (kg/m ²)	29,7±4,6	29,4±4,8	0,308
PAS (mmHg)	137,4±17,5	137,1±14,1	0,907
PAD (mmHg)	81,1±8	81,6±5,8	0,650
TG (mg/dL)	177,4±116,9	165,5±69,3	0,406
Colesterol (mg/dL)	196,5±45	194±26,4	0,640
HDL (mg/dL)	50,1±9,4	56±14,3	0,012
LDL (mg/dL)	111,3±34,2	107±22,8	0,333
Glicose (mg/dL)	121,9±37,5	148,3±57,3	0,006
PCR (mg/dL)	0,61±1,21	0,50±0,94	0,563
Estrona (pg/mL)	31,3±15	36,9±13,7	0,022

Média±DP; IMC=índice de massa corpórea; PAD=pressão arterial diastólica; PAS=pressão arterial sistólica; PCR=proteína C reativa; TG=triglicérides.

Abaixo, as variáveis independentemente associadas com maior mortalidade pela análise multivariada, utilizando-se o método de Cox (Tabela 10).

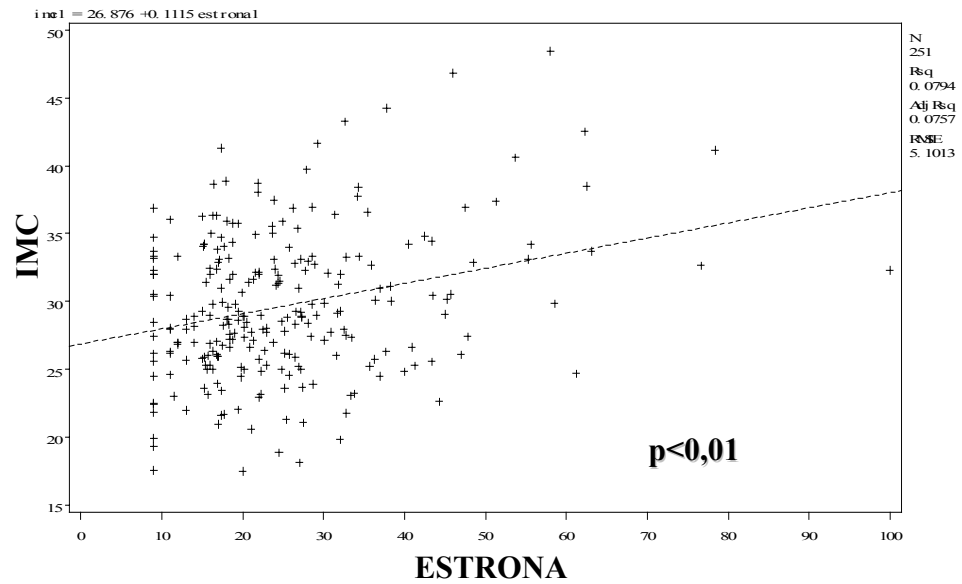
Tabela 10 - Análise multivariada (IC 95%)

Variáveis	Odds ratio	IC	p
Idade	1,08	1,01 – 1,18	0,037
PCR	1,24	1,03 – 1,50	0,024
HAS	6,22	1,86 - 20,81	0,003

HAS=hipertensão arterial sistêmica; PCR=proteína C reativa.

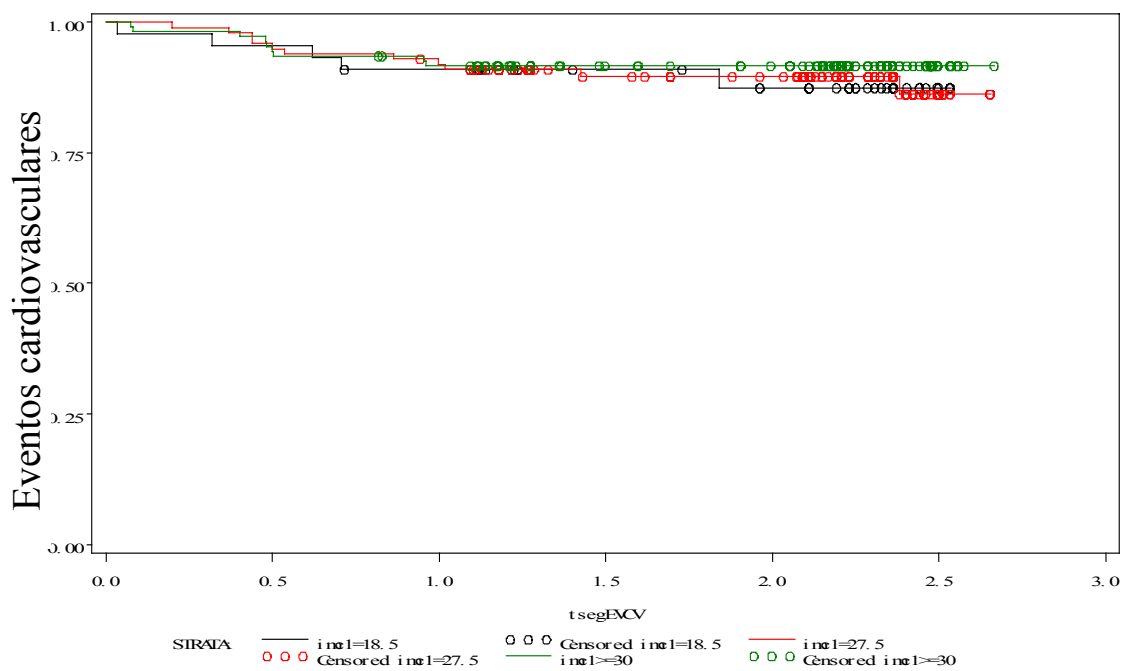
Na Figura 1, abaixo, observou-se, apesar de estatisticamente significativa ($p < 0,01$), baixa correlação (8%) entre o índice de massa corpórea (IMC) e os níveis séricos de estrona.

Figura 1 - Correlação entre o índice de massa corpórea (IMC) e os níveis séricos de estrona



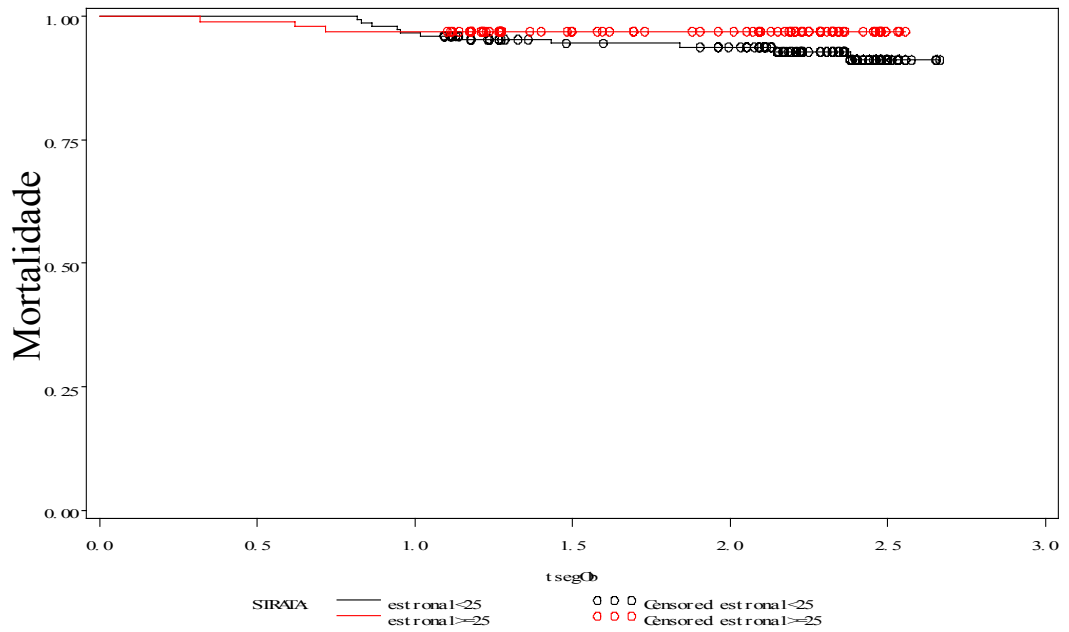
Na Figura 2 (curva de Kaplan-Meier), observamos a incidência de eventos cardiovasculares, conforme o índice de massa corpórea (IMC): Normal = $18,5 \leq \text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$; Sobrepeso = $25 \leq \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$ e Obeso = $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$, sendo esta incidência semelhante nos grupos analisados ($p = \text{NS}$).

Figura 2 - Curva de Kaplan-Meier para eventos cardiovasculares segundo o índice de massa corpórea (IMC): normal, sobrepeso e obeso



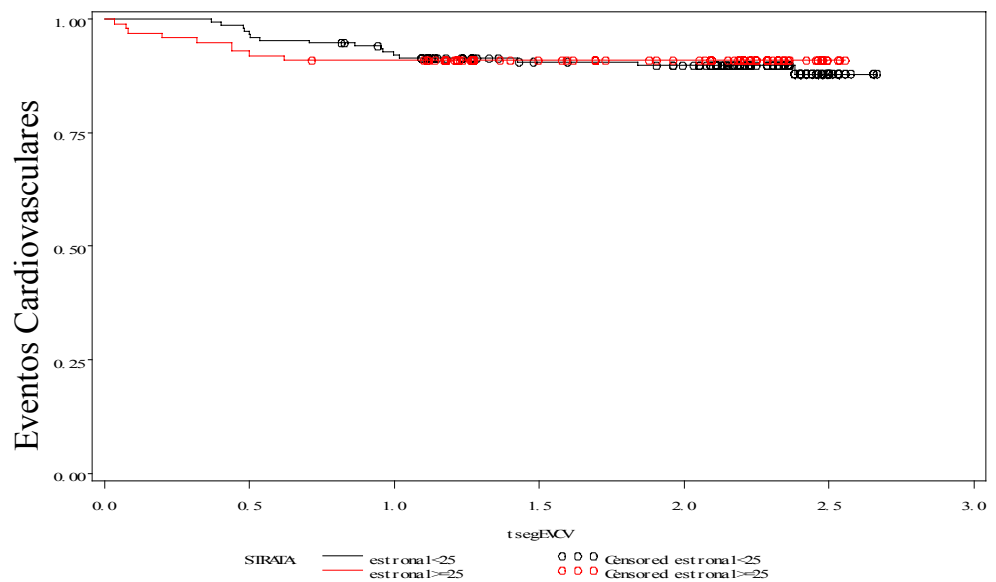
A mortalidade, conforme os níveis séricos de estrona <25 vs ≥25 pg/mL, está representada na Figura 3 (curva de Kaplan-Meier), e foi semelhante entre os grupos (p=NS).

Figura 3 - Curva de Kaplan-Meier para mortalidade segundo os níveis séricos de estrona <25 vs ≥25 pg/mL



A incidência de eventos cardiovasculares (total de 25), conforme os níveis séricos de estrona <25 vs ≥ 25 pg/mL, foi semelhante nos dois grupos analisados, como mostra a Figura 4 (curva de Kaplan-Meier), e ocorreram no tempo médio de seguimento de $0,62 \pm 0,46$ anos.

Figura 4 - Curva de Kaplan-Meier para eventos cardiovasculares segundo os níveis séricos de estrona <25 vs ≥ 25 pg/mL



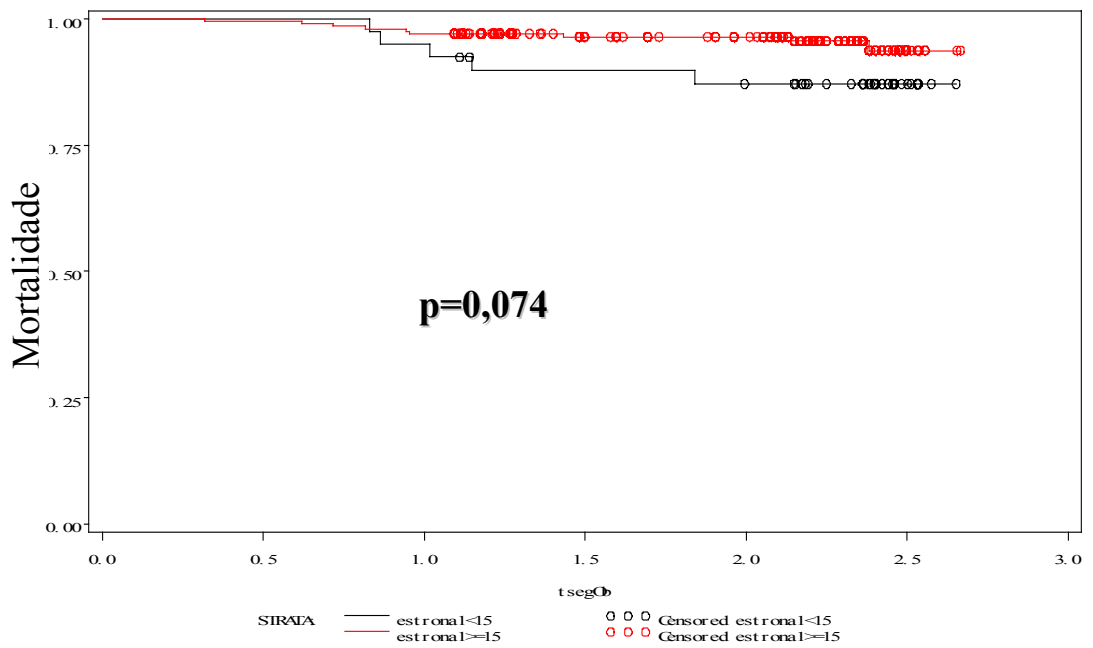
Mostramos, abaixo, a relação dos eventos cardiovasculares que ocorreram durante o seguimento:

Evento	Nº
IAM	5
Choque cardiogênico	2
AVC	2
RM	3
Angioplastia	2
Angina instável	8
ICC	3

IAM=infarto agudo do miocárdio; AVC=acidente vascular cerebral; RM=revascularização do miocárdio; ICC=insuficiência cardíaca congestiva.

Na Figura 5 (curva de Kaplan-Meier), observou-se uma tendência de maior mortalidade ($p=0,074$), conforme os níveis séricos de estrona <15 vs ≥ 15 pg/mL.

Figura 5 - Curva de Kaplan-Meier para mortalidade conforme os níveis séricos de estrona <15 vs ≥ 15 pg/mL



O tempo médio de óbito foi de $1,15 \pm 0,59$ anos. Abaixo, a relação com diagnóstico da causa de morte. Dentre as 14 causas de morte, 8 foram por doenças cardiovasculares e 6 por outras causas.

Nº de óbitos	Causa
1	Septicemia
2	Choque cardiogênico
3	IAM
4	Neoplasia
5	IAM
6	Pancreatite
7	Pneumonia
8	Pneumonia
9	Neoplasia
10	Choque cardiogênico
11	IAM
12	AVC
13	IAM
14	IAM

AVC=acidente vascular cerebral; IAM=infarto agudo do miocárdio.

As Figuras 6, 7 e 8 mostram a comparação entre a presença de DAC (DAC=1) e Alto risco para DCV [DAC não documentada (DAC=2)], com os níveis séricos de estrona, nas visitas: Visita 1 ($23,6 \pm 11,7$ vs $28,8 \pm 12,2$ pg/mL; $p=0,008$), Visita 2 ($28,5 \pm 10,5$ vs $36,7 \pm 15,3$ pg/mL; $p=0,001$), e Visita 3 ($31,3 \pm 15$ vs $36,9 \pm 13,7$ pg/mL; $p=0,022$).

Figura 6 - Comparação entre portadoras de DAC (DAC=1) e de Alto risco para DCV (DAC=2) com os níveis séricos de estrona na visita 1

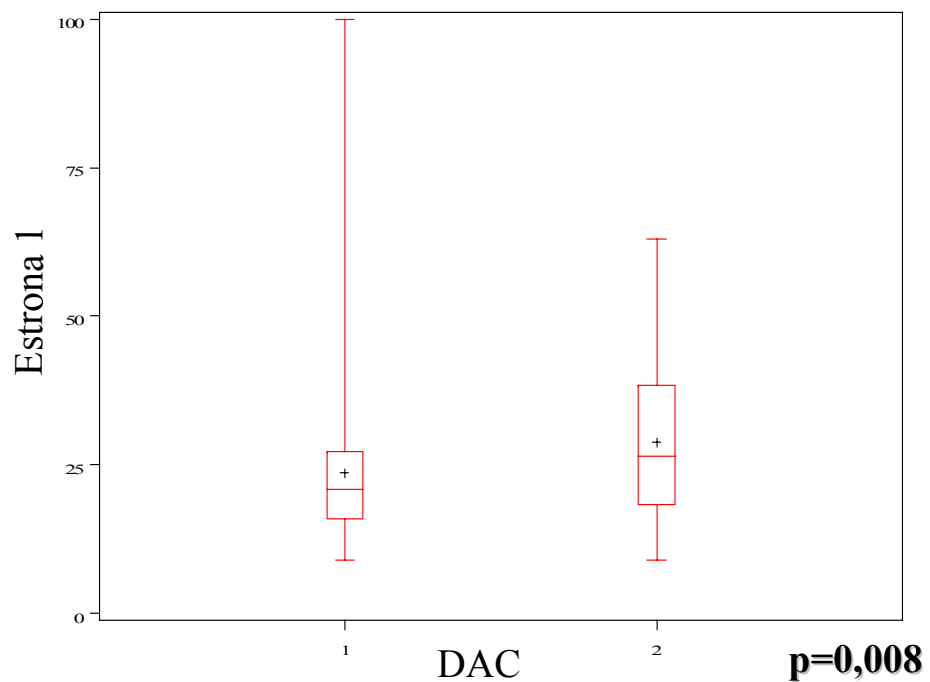


Figura 7 - Comparação entre portadoras de DAC (DAC=1) e de Alto risco para DCV (DAC=2) com os níveis séricos de estrona na visita 2

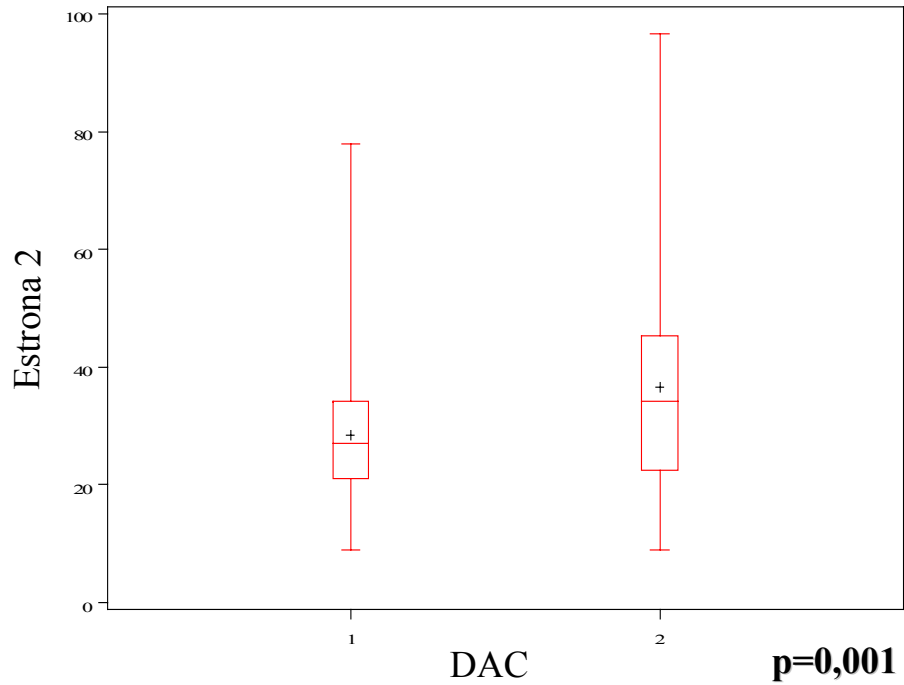
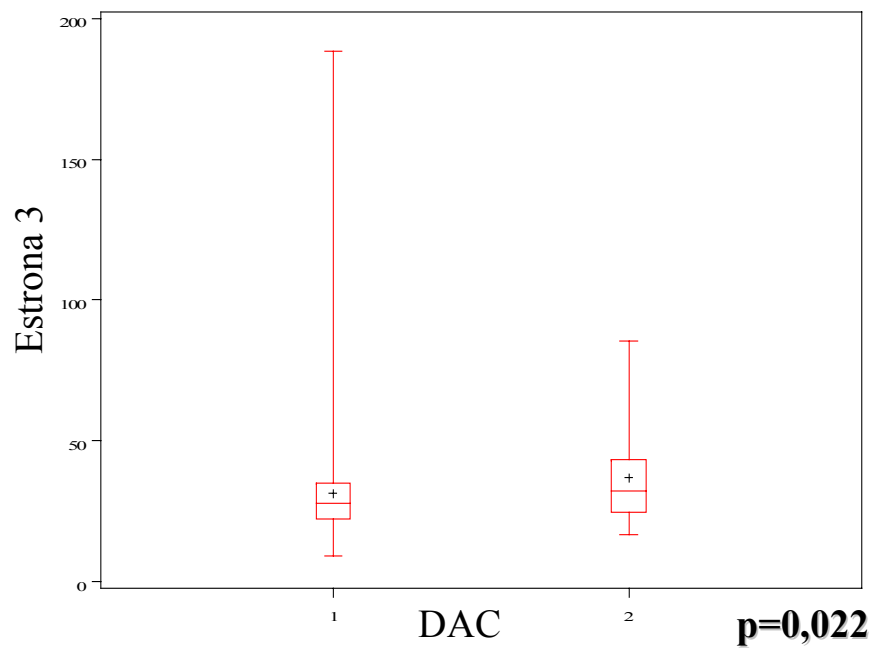


Figura 8 - Comparação entre portadoras de DAC (DAC=1) e de Alto risco para DCV (DAC=2) com os níveis séricos de estrona na visita 3



5 *Discussão*

Este estudo mostrou que o nível sérico da estrona, um estrógeno endógeno, associou-se diretamente com menor prevalência de DAC, mas não influenciou na incidência de eventos cardiovasculares, nem na mortalidade total. Observou-se, porém, uma tendência de maior mortalidade para níveis de estrona ≤ 15 pg/mL ($p=0,074$), valores menores que o limite inferior da normalidade para a estrona, segundo a metodologia utilizada. Da mesma forma, a correlação entre o IMC e os níveis de estrona, apesar de estatisticamente significativa ($p<0,05$), foi baixa (8%). Portanto, a hipótese primária do estudo não pôde ser totalmente comprovada, isto é, maiores valores de IMC associados a maiores níveis de estrona e de proteção cardiovascular.

5.1 Obesidade e Doenças Cardiovasculares

Estudos epidemiológicos anteriores mostraram que a obesidade é um crescente problema de saúde pública. Análise recente (NHANES – *National Health and Nutrition Examination Survey*) mostrou sobrepeso (IMC ≥ 25

kg/m²) em quase 65% da população dos Estados Unidos da América (EUA).²⁹ O aumento de peso está associado a um maior risco de doenças cardiovasculares, metabólicas, e o aumento de mortalidade.^{30,31} Observou-se um aumento 10 vezes maior do risco de diabetes melito tipo 2 em crianças e adolescentes.³² Da mesma forma, dentre os distúrbios metabólicos, temos a síndrome metabólica definida pela Sociedade Brasileira de Cardiologia como a combinação de pelo menos três dos seguintes componentes: obesidade abdominal (homens >102 cm e mulheres >88 cm), triglicérides ≥ 150 mg/dL, HDL <40 mg/dL para homens e <50 mg/dL para mulheres, glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL, e pressão arterial entre 130 e 85 mmHg.³³ Em nosso estudo, também observamos este padrão nas pacientes com sobrepeso, e em maior intensidade nas mulheres obesas (IMC ≥ 30 kg/m²). Contudo, estudos recentes vêm mostrando, pela análise do IMC, conclusões contraditórias em relação aos estudos observacionais prévios.

McGee, em uma meta-análise de 26 estudos observacionais, mostrou igual mortalidade total e por DCV nas mulheres, quando comparou os grupos com IMC normal e com sobrepeso.¹⁴ Entretanto, nos obesos, a mortalidade total e por DCV foi maior, comparando-se aos indivíduos com peso normal e respectivos riscos relativos de 1,27 e 1,53.

Flegal e cols. mostraram igual mortalidade entre os indivíduos com sobrepeso e com peso normal, porém maior mortalidade em indivíduos abaixo do peso normal (IMC <18,5 kg/m²) e nos obesos.¹⁵

Romero-Corral e cols., usando o IMC como variável padrão, observaram maior risco relativo de 1,37 para mortalidade total, e de 1,45 para DCV em indivíduos abaixo do peso normal. Os autores não observaram aumento da mortalidade total e por DCV em indivíduos obesos.¹⁶ O risco relativo para mortalidade por DCV foi significativo, e de 1,88 somente em indivíduos com obesidade acentuada ($\text{IMC} \geq 35 \text{ kg/m}^2$).

Flegal e cols. questionaram os estudos anteriores pelo não ajuste estatístico do modelo utilizado, enquanto Romero-Corral e cols. discutiram o poder discriminatório da variável IMC. Por outro lado, Gregg e cols. mostraram, com exceção do diabetes melito, que houve um aumento não significativo de <2% neste período, redução dos fatores de risco tradicionais para todas as faixas discriminatórias do IMC.³⁴ Entre os 40 anos, do 1960-1962 (NHANES I) ao atual 1999-2000, observou-se redução de 21% nos níveis séricos de colesterol total, 18% na prevalência de HAS, e de 12% no tabagismo. Segundo os autores, estas reduções ocorreram devido ao aumento do uso de medicações anti-hipertensivas e hipolipemiantes.

A obesidade está também associada a um aumento na produção de fatores pró-inflamatórios, tais como fator de necrose tumoral α , interleucina 6, adiponectina, leptina, proteína C reativa, entre outros.^{16,35,36} Estes fatores pró-inflamatórios são intensificados com a inatividade física, porém discute-se a melhora do perfil metabólico em indivíduos com sobrepeso, ou obesos, com atividade física adequada.³⁷

A proteína C reativa tem uma razão de chances de 10 vezes maior em obesas sedentárias. Em nosso estudo, observamos pela análise multivariada de Cox, após 2 anos de seguimento, que a proteína C reativa foi um fator de risco independente para mortalidade total. O aumento dos níveis de proteína C reativa está associada a obesidade e a disfunção endotelial, favorecendo o processo aterosclerótico e eventos cardiovasculares.^{38,39}

5.2 Obesidade e Estrógenos Endógenos

Este estudo mostrou um aumento progressivo dos níveis séricos de estrona entre as visitas 1 a 3, e nas mulheres obesas ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Os níveis de estrona foram semelhantes nas mulheres com sobrepeso e no grupo com peso normal. A correlação entre os IMC e níveis de estrona foi baixa, apesar de estatisticamente significativa como observado em estudo recente de Castracane e cols., o qual mostrou uma melhor, porém ainda baixa, correlação de 0,37 ($p=0,001$) em 73 mulheres na pós-menopausa.⁴⁰ Sabe-se da importante presença, no tecido adiposo, da enzima aromatase, responsável pela conversão da androstenediona em estrona, e, conseqüentemente, maiores níveis séricos de estrona em mulheres obesas.^{41,42,43} Da mesma forma, observou-se redução da concentração de

receptores alfa e beta do estrógeno nas mulheres na pós-menopausa. Contudo, esta redução foi menor nas mulheres obesas.⁴⁴ Assim sendo, nossos resultados estão de acordo com a literatura, mostrando maiores níveis de estrona nas mulheres obesas na pós-menopausa.

Observamos, em nosso estudo, padrão da síndrome metabólica nas mulheres com sobrepeso e nas obesas. O processo da aterosclerose seria, então, decorrente da associação destes fatores de risco, e sua intensidade poderia ser semelhante à observada nos homens. Porém, observamos que, mesmo após a menopausa, a intensidade da doença é menor nas mulheres, para a mesma faixa etária.

Desta forma, surge a hipótese de que a estrona pode ser uma resposta compensatória protetora do organismo, em especial do sistema cardiovascular, em resposta às alterações metabólicas da obesidade nas mulheres na pós-menopausa. Alguns mecanismos envolvidos podem ser a regulação pelos estrógenos endógenos do metabolismo lipídico, glicêmico, ou dos níveis de marcadores inflamatórios.^{45,46,47}

Podemos questionar, ainda, se, após a menopausa, fenômeno natural que ocorre nas mulheres, a necessidade estrogênica fisiológica proporcionada pela estrona teria a intensidade mais adequada para as mulheres nesta faixa etária. Isto, inclusive, justificaria o aumento de efeitos colaterais (hiperplasia endometrial, câncer de mama) e a total ausência de benefícios protetores para a prevenção primária ou secundária para as DCV em resposta ao excesso da concentração dos fármacos na reposição

hormonal.^{48,49,50,51} Por outro lado, justificaria o possível benefício dos fitoestrogênios.⁵²

5.3 Estrógenos Endógenos e Doenças Cardiovasculares

Ao contrário da associação mais consistente entre obesidade, distúrbios metabólicos e estrógenos endógenos, a relação entre maiores níveis de estrógenos endógenos e maior proteção para as DCV continua indefinida. Estudos preliminares não mostraram proteção da estrona para DCV. Destes, o primeiro estudo caso (N=62) - controle (N=25) de Cauley e cols., analisou um número reduzido de indivíduos, e não mostrou associação entre estrona e DCV.⁵³

O primeiro estudo prospectivo analisou 651 pacientes na pós-menopausa, na ausência de reposição hormonal, e não mostrou associação entre estrona e melhor perfil dos fatores de risco, assim como ausência de proteção ou casualidade para a incidência de DCV.⁵⁴

Outros estudos, porém, mostraram menor risco para o processo aterosclerótico pela análise da espessura média da íntima das artérias carótidas^{55,56}, ou pela redução dos eventos cardiovasculares.⁵⁷

Este estudo mostrou dois importantes pontos em relação a estrona e DCV.

Primeiro, as mulheres com DAC definitiva, diagnosticada pela coronariografia, tinham, nos três momentos de análise (Visitas 1, 2 e 3), no período de seguimento de 2 anos, menores níveis séricos de estrona (<25 pg/mL). Este ponto de corte foi escolhido por representar a média dos valores obtidos na população do estudo, assim como distribuindo um número (N) adequado para ambos os grupos, reduzindo, portanto, erros estatísticos do tipo II e distribuição normal das variáveis.

Segundo, pela curva de sobrevida de Kaplan-Meier, observou-se uma tendência ($p=0,074$) de menor mortalidade total nas mulheres com níveis séricos de estrona menores de 15 pg/mL. Este último resultado limítrofe pode ser explicado por duas principais variáveis de análise: número reduzido de pacientes e tempo de seguimento pequeno, para melhor mesurar os objetivos primários.

Estes resultados sugerem uma maior prevalência de DAC na nossa população, fato este observado nas três visitas, nas quais manteve-se estatisticamente significativa a associação entre os menores níveis séricos de estrona e a presença de DAC definitiva (Tabelas 7, 8 e 9). Para a incidência de eventos cardiovasculares e mortalidade, necessitaremos de maior número de pacientes e maior tempo de seguimento.

6 *Conclusões*

- 1- Observou-se aumento significativo dos níveis séricos de estrona nas mulheres obesas ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) na pós-menopausa.
- 2- Observou-se associação entre menores níveis séricos de estrona e maior prevalência de DAC, nas três visitas.
- 3- Não se observou associação entre IMC e estrona, em relação à incidência de eventos cardiovasculares.
- 4- Não se observou associação entre IMC e estrona com a mortalidade.

Protocolo N° 167 / 03

Matrícula	Nome	Iniciais
ENDEREÇO / Logradouro		
Município	UF	CEP
Telefones		
Observações		

Ano da menopausa

Consulta inicial		Consulta do 6º mês		Consulta 12º mês	
Data	: / /	Data	: / /	Data	: / /
Peso (kg)	:	Peso (kg)	:	Peso (kg)	:
Altura (m)	:	Altura (m)	:	Altura (m)	:
PA (mmHg)	S= D=	PA (mmHg)	S= D=	PA (mmHg)	S= D=
Diagnósticos		Diagnósticos		Diagnósticos	
HAS	[]1=sim []2=não				
IVP	[]1=sim []2=não				
Diabetes	[]1=sim []2=não				
DLP	[]1=sim []2=não				
AF	[]1=sim []2=não				
DAC	[]1=sim []2=não				
AE	[]1=sim []2=não	AE	[]1=sim []2=não	AE	[]1=sim []2=não
ICC	[]1=sim []2=não	ICC	[]1=sim []2=não	ICC	[]1=sim []2=não
RM	[]1=sim []2=não	RM	[]1=sim []2=não	RM	[]1=sim []2=não
Angioplastia	[]1=sim []2=não	Angioplastia	[]1=sim []2=não	Angioplastia	[]1=sim []2=não
AI	[]1=sim []2=não	AI	[]1=sim []2=não	AI	[]1=sim []2=não
IAM	[]1=sim []2=não	IAM	[]1=sim []2=não	IAM	[]1=sim []2=não
Óbito não card.	[]1=sim []2=não	Óbito não card.	[]1=sim []2=não	Óbito não card.	[]1=sim []2=não
Morte súbita	[]1=sim []2=não	Morte súbita	[]1=sim []2=não	Morte súbita	[]1=sim []2=não
Não localizado	[]1=sim []2=não	Não localizado	[]1=sim []2=não	Não localizado	[]1=sim []2=não
Assintomático	[]1=sim []2=não	Assintomático	[]1=sim []2=não	Assintomático	[]1=sim []2=não
Outro:		Outro:		Outro:	
Exames		Exames		Exames	
Glicose	mg/dl	Glicose	mg/dl	Glicose	mg/dl
Proteína C reativa	mg/dl	Proteína C reativa	mg/dl	Proteína C reativa	mg/dl
Estrona	pg/ml	Estrona	pg/ml	Estrona	pg/ml
Triglicérides	mg/dl	Triglicérides	mg/dl	Triglicérides	mg/dl
Colesterol total	mg/dl	Colesterol total	mg/dl	Colesterol total	mg/dl
HDL	mg/dl	HDL	mg/dl	HDL	mg/dl
LDL	mg/dl	LDL	mg/dl	LDL	mg/dl
Medicamentos		Medicamentos		Medicamentos	
Beta-bloqueador	[]1=sim []2=não	Beta-bloqueador	[]1=sim []2=não	Beta-bloqueador	[]1=sim []2=não
Bloqueador de Ca	[]1=sim []2=não	Bloqueador de Ca	[]1=sim []2=não	Bloqueador de Ca	[]1=sim []2=não
AAS	[]1=sim []2=não	AAS	[]1=sim []2=não	AAS	[]1=sim []2=não
IECA	[]1=sim []2=não	IECA	[]1=sim []2=não	IECA	[]1=sim []2=não
Nitrato	[]1=sim []2=não	Nitrato	[]1=sim []2=não	Nitrato	[]1=sim []2=não
Diurético	[]1=sim []2=não	Diurético	[]1=sim []2=não	Diurético	[]1=sim []2=não
Hipolipemiante	[]1=sim []2=não	Hipolipemiante	[]1=sim []2=não	Hipolipemiante	[]1=sim []2=não
Digoxina	[]1=sim []2=não	Digoxina	[]1=sim []2=não	Digoxina	[]1=sim []2=não
Próxima consulta: / /	:	Próxima consulta: / /	:		
exames: / /		exames: / /			

8 Referências

1. Mansur AP, Favarato D, Souza MFM, Avakian SD, Aldrighi JM, César LAM, Ramires JAF. Tendência do risco de morte por doenças circulatórias no Brasil de 1979 a 1996. Arq Bras Cardiol 2001;76:497-510.
2. Souza MFM, Timerman A, Serrano CV Jr, Santos RD, Mansur AP. Tendências do Risco de Morte por Doenças Circulatórias nas Cinco Regiões do Brasil no Período de 1979 a 1996. Arq Bras Cardiol 2001;77:562-8.
3. Mansur AP, Souza MFM, Timerman A, Ramires JAF. Tendência do risco de morte por doenças circulatórias, cerebrovasculares e isquêmicas do coração em 11 capitais do Brasil de 1980 a 1998. Arq Bras Cardiol 2002;79:269-76.
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-26.

5. Kuulasmaa K, Tunstall-Pedoe H, Dobson A, Fortmann S, Sans S, Tolonen H, Evans A, Ferrario M, Tuomilehto J. Estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary-event rates across the WHO MONICA Project populations. *Lancet* 2000;355:675-87.
6. Stangl V, Baumann G, Stangl K. Coronary atherogenic risk factors in women. *Eur Heart J* 2002;23:1738-1752.
7. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 2002;346:340-52.
8. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 1997;138:863-70.
9. Zhu BT, Han GZ, Shim JY, Wen Y, Jiang XR. Quantitative structure-activity relationship of various endogenous estrogen metabolites for human estrogen receptor alpha and beta subtypes: Insights into the structural determinants favoring a differential subtype binding. *Endocrinology* 2006;147:4132-50.
10. Brown L, Hoong I, Doggrell AS. The heart as a target for Oestrogens. *Heart Lung Circ* 2000;9:113-125.

11. Mendelsohn ME. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *Am J Cardiol* 2002;89:12E-18E.
12. Lerner DJ, Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J* 1986;111:383-90.
13. Mansur AP, Gomes EP, Avakian SD, Favarato D, Cesar LAM, Aldrighi JM, Ramires JAF. Clustering of traditional risk factors and precocity of coronary disease in women. *Int J Cardiol* 2001;81:205-9.
14. McGee DL. Body mass index and mortality: a meta-analysis based on person-level data from twenty-six observational studies. *Ann Epidemiol* 2005;15:87-97.
15. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA* 2005;293:1861-7.
16. Romero-Corral A, Montori VM, Somers VK, Korinek J, Thomas RJ, Allison TG, Mookadam F, Lopez-Jimenez F. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. *Lancet* 2006;368:666-78.

17. Björntorp P. Body fat distribution, insulin resistance and metabolic diseases. *Nutrition* 1997;13:795-803.
18. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002;288:2709-2716.
19. Mora S, Lee IM, Buring JE, Ridker PM. Association of physical activity and body mass index with novel and traditional cardiovascular biomarkers in women. *JAMA* 2006;295:1412-1419.
20. Wolk R, Berger P, Lennon RJ, Brilakis ES, Somers VK. Body mass index: A risk factor for unstable angina and myocardial infarction in patients with angiographically confirmed coronary artery disease. *Circulation* 2003;108:2206-2211.
21. Mosca L, Barret-Connor E, Wenger NK, Collins P, Grady D, Kornitzer M, Moscarelli E, Paul S, Wright TJ, Helterbrand JD, Anderson PW. Design and methods of the Raloxifene Use for The Heart (RUTH) study. *Am J Cardiol* 2001;88:392-5.
22. Sherman S. Defining the menopausal transition. *Am J Med* 2005;118:3S-7S.
23. Campeau L. Grading of angina pectoris. *Circulation* 1976;54:522-3.

24. American Diabetes Association: diagnosis and classification of Diabetes Mellitus 2006. *Diabetes Care* 2006; 29 (Suppl S):S43-S48.
25. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *JAMA* 2003; 289:2560-2572.
26. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2001; 77:4-8.
27. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the conduct of the tobacco smoking surveys of the general population: report of a meeting. Geneva, 1992.(N/WHO/SMO/83.4).
28. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Organization, 2000 Technical Report Series, n° 894.
29. www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/hestats/obse99.htm
30. Ashton WD, Nanchahal K, Wood DA. Body mass index and metabolic risk factors for coronary heart disease in women. *Eur Heart J* 2001;22:10-1.

31. Bender R, Zeeb H, Schwarz M, Jockel KH, Berger M. Causes of death in obesity: relevant increase in cardiovascular but not in all-cancer mortality. *J Clin Epidemiol* 2006;59:1064-71.
32. Pinhas-Hamiel O, Dolan LM, Daniels SR, Standiford D, Khoury PR, Zeitler P. Increased incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus among adolescents. *J Pediatr* 1996;128:608-15.
33. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005;84:3-28.
34. Gregg EW, Cheng YJ, Cadwell BL, Imperatore G, Williams DE, Flegal KM, Narayan KM, Williamson DF. Secular trends in cardiovascular disease risk factors according to body mass index in US adults. *JAMA* 2005;293:1868-74.
35. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342:836-43.
36. Sowers JR. Obesity as a cardiovascular risk factor. *Am J Med* 2003;115 (Suppl 8A):37S-41S.

37. Diaz VA, Player MS, Mainous AG 3rd, Carek PJ, Geesey ME. Competing impact of excess weight versus cardiorespiratory fitness on cardiovascular risk. *Am J Cardiol* 2006;98:1468-71.
38. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppel SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:972-8.
39. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999;282:2131-5.
40. Castracane VD, Kraemer GR, Ogden BW, Kraemer RR. Interrelationships of serum estradiol, estrone, and estrone sulfate, adiposity, biochemical bone markers, and leptin in post-menopausal women. *Maturitas* 2006;53:217-25.
41. Kamat A, Hinshelwood MM, Murry BA, Mendelson CR. Mechanisms in tissue-specific regulation of estrogen biosynthesis in humans. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13:122-8.
42. Puche C, Jose M, Cabero A, Meseguer A. Expression and enzymatic activity of the P450c17 gene in human adipose tissue. *Eur J Endocrinol* 2002;146:223-9.

43. Lukanova A, Lundin E, Zeleniuch-Jacquotte A, Muti P, Mure A, Rinaldi S, Dossus L, Micheli A, Arslan A, Lenner P, Shore RE, Krogh V, Koenig KL, Riboli E, Berrino F, Hallmans G, Stattin P, Toniolo P, Kaaks R. Body mass index, circulating levels of sex-steroid hormones, IGF-I and IGF-binding protein-3: a cross-sectional study in healthy women. *Eur J Endocrinol* 2004;150:161-71.
44. Meza-Munoz DE, Fajardo ME, Perez-Luque EL, Malacara JM. Factors associated with estrogen receptors-alpha (ER-alpha) and -beta (ER-beta) and progesterone receptor abundance in obese and non obese pre- and post-menopausal women. *Steroids* 2006;71:498-503.
45. Mudali S, Dobs AS, Ding J, Cauley JA, Szklo M, Golden SH; atherosclerosis risk in communities study. Endogenous postmenopausal hormones and serum lipids: the atherosclerosis risk in communities study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1202-9.
46. Kalish GM, Barrett-Connor E, Laughlin GA, Gulanski BI; Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention Trial. Association of endogenous sex hormones and insulin resistance among postmenopausal women: results from the Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1646-52.

47. Folsom AR, Golden SH, Boland LL, Szklo M. Association of endogenous hormones with C-reactive protein, fibrinogen, and white blood count in post-menopausal women. *Eur J Epidemiol* 2005;20:1015-22.
48. Tepper R, Goldberger S, Cohen I, Segal J, Yarkoni S, Fejgin M, Beyth Y. Estrogen replacement in postmenopausal women: are we currently overdosing our patients? *Gynecol Obstet Invest* 1994;38:113-16.
49. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998;280:605-13.
50. Simon JA, Hsia J, Cauley JA, Richards C, Harris F, Fong J, Barrett-Connor E, Hulley SB. Postmenopausal hormone therapy and risk of stroke: The Heart and Estrogen-progestin Replacement Study (HERS). *Circulation* 2001;103:638-42.

51. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson D, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321-33.
52. Wu J, Oka J, Higuchi M, Tabata I, Toda T, Fujioka M, Fuku N, Teramoto T, Okuhira T, Ueno , Uchiyama S, Urata K, Yamada K, Ishimi Y. Cooperative effects of isoflavones and exercise on bone and lipid metabolism in postmenopausal Japanese women: a randomized placebo-controlled trial. *Metabolism* 2006;55:423-33.
53. Cauley JA, Gutai JP, Glynn NW, Paternostro-Bayles M, Cottington E, Kuller LH. Serum estrone concentrations and coronary artery disease in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb* 1994;14:14-8.
54. Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D. Prospective study of endogenous sex hormones and fatal cardiovascular disease in postmenopausal women. *BMJ* 1995;311:1193-6.
55. Bernini GP, Sgro' M, Moretti A, Argenio GF, Barlascini CO, Cristofani R, Salvetti A. Endogenous androgens and carotid intimal-medial thickness in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2008-12.

56. Golden SH, Maguire A, Ding J, Crouse JR, Cauley JA, Zacur H, Szklo M. Endogenous postmenopausal hormones and carotid atherosclerosis: a case-control study of the atherosclerosis risk in communities cohort. *Am J Epidemiol* 2002;155:437-45.

57. Rexrode KM, Manson JE, Lee IM, Ridker PM, Sluss PM, Cook NR, Buring JE. Sex hormone levels and risk of cardiovascular events in postmenopausal women. *Circulation* 2003;108:1688-93.