

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

**EFEITOS DO USO DE ESTRÓGENOS ORAIS E TRANSDÉRMICOS SOBRE IGF-1,
IGFBP-3, IGFBP-1, LIPÍDIOS E METABOLISMO DA GLICOSE EM PACIENTES
COM HIPOPITUITARISMO: UM ESTUDO RANDOMIZADO**

Ana Lúcia Isotton

Dissertação de mestrado

Porto Alegre, Julho de 2007

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

**EFEITOS DO USO DE ESTRÓGENOS ORAIS E TRANSDÉRMICOS SOBRE IGF-1,
IGFBP-3, IGFBP-1, LIPÍDIOS E METABOLISMO DA GLICOSE EM PACIENTES
COM HIPOPITUITARISMO: UM ESTUDO RANDOMIZADO**

Ana Lúcia Isotton

Orientador: Dr. Mauro Antônio Czepielewski

Co-orientadora: Maria Celeste Osório Wender

Dissertação de mestrado

Porto Alegre, Julho de 2007

I85e Isotton, Ana Lúcia

Efeitos do uso de estrógenos orais e transdérmicos sobre IGF-1, IGFBP-3, IGFBP-1, lipídios e metabolismo da glicose em pacientes com hipopituitarismo : um estudo randomizado / Ana Lúcia Isotton ; orient. Mauro Antonio Czepielewski ; co-orient. Maria Celeste Osório Wender. – 2007.

127 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia. Porto Alegre, BR-RS, 2007.

1. Hipopituitarismo 2. Terapia de reposição de estrogênios 3. Terapia de reposição hormonal 4. Progestinas 5. Hormônio do crescimento 6. Fator de crescimento insulin-like I 7. Proteína 1 de ligação a fator de crescimento insulin-like 8. Proteína 3 de ligação a fator de crescimento insulin-like I. Czepielewski, Mauro Antonio II. Wender, Maria Celeste Osório III. Título.

NLM: WK 550

Aos meus pais Odolir e Rita.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mauro Antônio Czepielewski, pelo incentivo, oportunidade, carinho e confiança que me foram depositados. Agradeço pela participação ativa em todos os momentos da realização dessa pesquisa, pela amizade, disponibilidade e paciência.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Maria Celeste Osório Wender, pela confiança na minha capacidade de trabalho e pelo estímulo à pesquisa e pelo carinho, e também por ter sido conselheira na tomada de decisões importantes para a minha vida profissional.

Aos colegas da pós-graduação, Dra. Alessandra Casagrande e Dr. Guilherme Rollim, pela disponibilidade e auxílio na captação de pacientes na fase inicial desse projeto, bem como pelo apoio clínico no decorrer da pesquisa e cuidado com as pacientes.

Também expresso minha gratidão às colegas Dra. Suzana Lago, Dra. Cristiane Kopacek e Nutr. Thais Steemburgo pelo companheirismo e amizade e pelos momentos de agradável convivência.

Aos meus preciosos amigos por seu carinho e apoio: Carol Kunzler, Carlos Kalakun, Ceres Oliveira, Simone Reckziegel.

Aos meus maravilhosos irmãos, Raquel Isotton e Luis Fernando Isotton, que me deram amor e apoio sem limites.

Aos meus pais, Odolir Isotton e Rita Isotton, exemplos de ética e honestidade, agradeço profundamente pelo amor incondicional e por me inspirarem e iluminarem com sua presença.

SUMÁRIO

FORMATO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO	7
LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	10
ARTIGO DE REVISÃO - Influências da reposição de estrógenos e progestágenos na ação do hormônio de crescimento em mulheres com hipopituitarismo	13
ARTIGO ORIGINAL - Efeitos do uso de estrógenos orais e transdérmicos sobre IGF-1, IGFBP-3, IGFBP-1, lipídios e metabolismo da glicose em pacientes com hipopituitarismo durante reposição com hormônio de crescimento: um estudo randomizado	62
ORIGINAL ARTICLE - Effects of oral and transdermal estrogen on IGF-1, IGFBP-3, IGFBP-1 and metabolism of lipids and glucose in patients with hypopituitarism during growth hormone treatment: a randomized study	95

FORMATO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

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

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

O presente trabalho foi realizado com o apoio das seguintes instituições:

1. CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) – através de Bolsa de Mestrado obtida junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Faculdade de Medicina, UFRGS;
2. CEDERS (Centro de Endocrinologia e Diabetes do Rio Grande do Sul) – através de apoio financeiro para dosagens de IGFBP-1 e IGFBP-3;
3. FIPE-HCPA (Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos, Hospital de Clínicas de Porto Alegre) – através da alocação de recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACO: anticoncepcional oral

ACTH: hormônio adrenocorticotrófico

ALS: subunidade ácido-lábil

CBG: globulina carreadora de cortisol

FSH: hormônio folículo-estimulante

GH: hormônio de crescimento

GHBP: proteína ligadora do hormônio de crescimento (*growth hormone binding protein*)

GnRH: hormônio liberador das gonadotrofinas

HDL-colesterol: *high density lipoprotein cholesterol*

HDL2: *high density lipoprotein cholesterol type 2*

HDL3: *high density lipoprotein cholesterol type 3*

HERS: *Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study*

HOMA: *homeostasis model assessment*

IGF-1: fator de crescimento insulina-símile número 1

IGFBP-1: proteína ligadora número 1 do IGF-1

IGFBP-2: proteína ligadora número 2 do IGF-1

IGFBP-3: proteína ligadora número 3 do IGF-1

IGFBP-4: proteína ligadora número 4 do IGF-1

IGFBP-5: proteína ligadora número 5 do IGF-1

IGFBP-6: proteína ligadora número 6 do IGF-1

IL-6: interleucina-6

LDL-colesterol: *low density lipoprotein cholesterol*

LH: hormônio luteinizante

NIH: *National Institute of Health*

NAMS: *North American Menopause Society*

PCR: proteína C reativa

PCR-US: proteína C reativa ultra-sensível

SHBG: globulina carreadora dos esteróides sexuais

TBG: globulina carreadora de tiroxina

TNF- α : fator de necrose tumoral-alfa

T4: tiroxina

TREP: terapia de reposição com estrógenos e progestágenos

TSH: hormônio tireoestimulante

VLDL: *very low density lipoprotein cholesterol*

WHI: *Women's Health Initiative*

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Artigo de revisão

Tabela 1 - Derivados estrogênicos disponíveis no mercado brasileiro	58
Tabela 2 - Derivados de progestágenos disponíveis no mercado brasileiro.....	59
Figura 1 - Ação de GH e IGF-1 e efeito de estrógeno oral. A) Conceitos atuais sobre a ação do GH mediada por IGF-1. Tecidos periféricos, como ossos, respondem aos efeitos combinados do IGF-1 circulante derivado do fígado (endócrino) e do IGF-1 gerado localmente (parácrino). Ambas as fontes contribuem para a inibição do <i>feedback</i> à liberação de GH da hipófise. B) Impacto da administração de estrógeno oral, que inibe a produção hepática de IGF-1 para reduzir o IGF-1 circulante. A perda de inibição do <i>feedback</i> resulta em uma estimulação da secreção de GH, o que poderia estimular tecidos periféricos, tais como ossos e músculos, e melhorar a ação parácrina do IGF-1, levando a níveis maiores de procolágeno circulante ou a um aumento de massa magra. Como isso não ocorre, sugere-se que o IGF-1 endócrino seja um regulador mais importante da estimulação dos tecidos periféricos do que o IGF-1 local. E ₂ = estradiol.	60

Artigo original

Tabela 1 - Caracterização da amostra no início do estudo	82
Tabela 2 - Características clínicas das mulheres com hipopituitarismo	83
Tabela 3 - Comparação entre as vias de administração no início do estudo	84
Tabela 4 - Comparação entre as fases do estudo conforme a via de administração.....	85
Tabela 5 - Comparação entre os grupos em relação à variação dos valores do terceiro mês para o estado basal	87
Tabela 6 - Correlações entre as variáveis em estudo e IGF-1 e suas proteínas ligadoras conforme o grupo	89

Figura 1 - Avaliação dos valores de IGF-1 antes e após o uso de estrógeno conforme a via de administração. A caixa representa a amplitude interquartílica (p25-p75); a mediana é apresentada como uma linha dentro da caixa; as linhas inferior e superior do gráfico indicam observações extremas, que estão a uma distância de 1,5 vezes a amplitude interquartílica. Valores que ultrapassaram esses limites são denominados de valores extremos (<i>outliers</i>).	90
Figura 2 - Avaliação dos valores de IGFBP-1 antes e após o uso de estrógeno conforme a via de administração. A caixa representa a amplitude interquartílica (p25-p75); a mediana é apresentada como uma linha dentro da caixa; as linhas inferior e superior do gráfico indicam observações extremas, que estão a uma distância de 1,5 vezes a amplitude interquartílica. Valores que ultrapassaram esses limites são denominados de valores extremos (<i>outliers</i>).	90
Figura 3 - Avaliação dos valores de IGFBP-3 antes e após o uso de estrógeno conforme a via de administração. A caixa representa a amplitude interquartílica (p25-p75); a mediana é apresentada como uma linha dentro da caixa; as linhas inferior e superior do gráfico indicam observações extremas, que estão a uma distância de 1,5 vezes a amplitude interquartílica.	90
Figura 4 - Relação entre as variações de insulina e IGFBP-1 do terceiro mês para o basal no grupo oral.	90

Original article

Table 1 - Characteristics of the sample at study outset	114
Table 2 - Clinical characteristics of the women with hypopituitarism.....	115
Table 3 - Comparison between administration routes at study outset.....	116
Table 4 - Comparison between study phases, by route of administration.....	118
Table 5 - Comparison between groups in terms of variation of 3rd month values from baseline	120
Table 6 - Correlations between study variables and IGF1 and its binding proteins, by group.....	122

Figure 1 - Analysis of IGF-1 before and after use of estrogen according to route of administration. The box represents the interquartile range (p25-p75); the

median is represented as a line within the box; the upper and lower lines on the graph represent extreme observations, which are at a distance of 1.5 times the interquartile range. Values that pass these limits are considered extreme and defined as outliers. 123

Figure 2 - Analysis of IGFBP-3 before and after use of estrogen according to route of administration. The box represents the interquartile range (p25-p75); the median is represented as a line within the box; the upper and lower lines on the graph represent extreme observations, which are at a distance of 1.5 times the interquartile range. Values that pass these limits are considered extreme and defined as outliers. 123

Figure 3 - Analysis of IGFBP-1 before and after use of estrogen according to route of administration. The box represents the interquartile range (p25-p75); the median is represented as a line within the box; the upper and lower lines on the graph represent extreme observations, which are at a distance of 1.5 times the interquartile range. Values that pass these limits are considered extreme and defined as outliers. 123

Figure 4 - Relationship between variation in insulin and IGFBP-1 from 3rd month to baseline in the oral group..... 123

ARTIGO DE REVISÃO

Influências da reposição de estrógenos e progestágenos na ação do hormônio de crescimento em mulheres com hipopituitarismo

The influence of estrogen and progestogen replacement on growth hormone activity in women with hypopituitarism

Título resumido: Reposição de estrógenos e progestágenos no hipopituitarismo

Isotton AL, Wender MCO, Czepielewski MA

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.

Correspondência:

Mauro Antônio Czepielewski

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar

CEP 90035-003 - Porto Alegre, RS

Tel.: (51) 3316-5600

E-mail: maurocze@terra.com.br

Resumo

O tratamento do hipogonadismo hipogonadotrófico na mulher adulta com hipopituitarismo inclui diversas alternativas terapêuticas de estrógenos e progestágenos, sendo a via oral a de menor custo e a de maior comodidade à paciente. A rota estrogênica oral, entretanto, exerce marcada influência sobre o eixo hormônio de crescimento/fator de crescimento insulina-símile número 1 (GH/IGF-1) nessas mulheres. O tratamento com estrógenos orais, concomitante ao uso de GH em pacientes com hipopituitarismo, antagoniza as ações biológicas do GH e agrava as anormalidades de composição corporal e o metabolismo em geral. Presume-se que o estrógeno oral iniba a secreção/produção de IGF-1 através de um efeito de primeira passagem hepática, causando um aumento da secreção de GH através de inibição do *feedback* negativo de IGF-1 em mulheres normais. Isso é demonstrado clinicamente por redução da massa magra, aumento da massa gorda, perfil lipídico aterogênico e prejuízo do bem-estar psicológico. Alguns estudos apontam que os progestágenos com ação androgênica revertem o efeito de diminuição dos níveis séricos de IGF-1 induzida pelos estrógenos orais. Progestágenos neutros não apresentam esse efeito, porém, quanto maior a potência androgênica, maior será a reversão do efeito de diminuição de IGF-1. Na presente revisão da literatura, serão abordados os aspectos clínicos da reposição com estrógenos e progestágenos nas mulheres com hipopituitarismo, suas interações nas outras deficiências hormonais, bem como o impacto do uso de estrógenos sobre as ações metabólicas do GH.

Palavras-chave: hipopituitarismo, tratamento, estrógenos, progestágenos, IGF-1, IGFBPS.

Abstract

Treatment of hypogonadotropic hypogonadism in adult woman with hypopituitarism can include a wide range of estrogen and progestogen treatment alternatives, and oral administration is the route of least cost and greatest patient comfort. The oral estrogen route has a major impact on the growth hormone-insulin-like growth factor I (GH-IGF-I) axis. Oral estrogen therapy, when given concurrently with GH to patients with hypopituitarism, antagonizes the biological effects of GH treatment and aggravates the abnormalities of body composition and the metabolism in general. It is presumed that oral estrogen suppresses the secretion/production of IGF-1 by a hepatic first-pass mechanism, resulting in increased GH secretion by means of suppressing the IGF-I negative feedback that is present in healthy women. This is manifest clinically in reduced lean body mass, increased fat mass, an atherogenic lipid profile and damage to psychological well-being. Some studies have indicated that progestogens with androgenic actions reverse the effect of reduced serum IGF-1 levels that is induced by the oral estrogens. Neutral progestogens do not exert this effect, however the stronger the androgenic potential, the more the effect of reduced IGF-1 will be reversed. This bibliographical review will deal with the clinical aspects of estrogen and progestogen replacement in women with hypopituitarism, their interactions with other hormone deficiencies and the impact of estrogen treatment on the metabolic actions of GH.

Keywords: hypopituitarism, treatment, estrogens, progestogens, IGF-1, IGFBPS

I - Introdução

O hipopituitarismo consiste na insuficiência parcial ou completa da secreção dos hormônios da hipófise anterior decorrentes de doença hipotalâmica ou hipofisária. Na criança, a deficiência múltipla da secreção desses hormônios é rara, contabilizando menos de três casos/milhão de pessoas/ano. No adulto, estima-se oito a dez novos casos/milhão de pessoas /ano (1). Suas causas são diversas. No adulto, particularmente, destacam-se os tumores hipofisários, cirurgia e/ ou radiação sobre a hipófise, infarto hipofisário (apoplexia), tumores peri-hipofisários (meningiomas, gliomas, metástases), hipofisite linfocítica, trauma, infecção, abscessos, hemocromatose, doenças granulomatosas e histiocitose X (2).

Os sinais e sintomas são variáveis e dependem da causa, do tipo e da gravidade da deficiência hormonal. A reserva funcional da glândula é grande, e as manifestações clínicas do hipopituitarismo são evidentes quando ocorre comprometimento de pelo menos 75% do seu parênquima (3,4).

As deficiências na secreção hormonal hipofisária manifestam-se na seguinte ordem: gonadotrofinas (hormônio luteinizante – LH; hormônio folículo-estimulante – FSH), somatotrofina (GH), tireotrofina (hormônio tireoestimulante – TSH) e, mais tardiamente, corticotrofina (hormônio adrenocorticotrófico – ACTH). Invariavelmente, quando há deficiência de GH, há deficiência de dois ou mais hormônios hipofisários (1).

Pacientes com lesões hipotálamo-hipofisárias podem apresentar sintomas associados às deficiências hormonais ou compressivos, que se caracterizam por cefaléia, alterações de campo visual e paralisia de nervos cranianos. As deficiências de hormônios adenoipofisários podem ter quadro clínico variável, de acordo com o grau de comprometimento da glândula e do tempo de evolução da doença (2).

II - Deficiência gonadotrófica

O hipogonadismo hipogonadotrófico é achado comum em indivíduos com afecções hipotálamo-hipofisárias, sendo a deficiência mais prevalente após a de GH, podendo ocorrer de forma isolada ou associada a outras deficiências (3).

O quadro clínico inclui fenômenos vasomotores (fogachos), amenorréia, infertilidade, redução da libido, sintomas urinários, redução da lubrificação vaginal, alterações do sono, diminuição da massa muscular, redução da massa óssea e dislipidemia (5).

O diagnóstico laboratorial é estabelecido através das dosagens de estradiol, de LH e de FSH, observando-se níveis reduzidos de estradiol e gonadotrofinas em níveis baixos ou normais (5). Em algumas situações, recomenda-se ainda o teste de estímulo com hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), demonstrando-se ausência de resposta das gonadotrofinas ao estímulo (3).

O tratamento da deficiência gonadotrófica consiste na reposição de estrógenos e progestágenos. A disponibilidade de diversos hormônios sintéticos trouxe grande avanço para o tratamento de pacientes com esse distúrbio. Esses tratamentos, inicialmente, utilizaram hormônios de origem animal e, mais recentemente, diversos derivados sintéticos que procuram mimetizar a secreção hormonal normal. Mesmo com essas substâncias, a reposição dos diversos hormônios no hipopituitarismo ainda é bastante controversa, especialmente no que se refere ao eixo gonadotrófico do sexo feminino. Para as mulheres adultas, está disponível uma infinidade de substâncias para uso via oral e algumas para uso transdérmico. Mesmo assim, muitos derivados não permitem fracionamento de dose e não são fisiológicos quando se analisam seus diversos efeitos (5).

III - Terapia de reposição com estrógenos e progestágenos

Dentre as diversas alternativas terapêuticas com estrógenos, a via oral é a mais utilizada por ter menor custo e pela comodidade para as pacientes. Entretanto, após a absorção intestinal, a passagem dos estrógenos pelo fígado induz o aumento da síntese de várias proteínas, tais como fatores de coagulação, angiotensinogênio e globulina carreadora dos esteróides sexuais (SHBG), o que pode causar hipercoagulabilidade, aumento da pressão arterial e diminuição da fração livre dos estrogênios circulantes, respectivamente (6). A vantagem da rota oral consiste na melhora do perfil lipídico, pois a passagem dos estrógenos pelo fígado faz com que haja o aumento do *high density lipoprotein cholesterol* (HDL-colesterol) e a diminuição do *low density lipoprotein cholesterol* (LDL-colesterol), propiciando um perfil lipoprotéico menos aterogênico. Esses efeitos, porém, não são observados com a rota transdérmica, que tem sido sugerida como mais fisiológica (7).

A estrogênio terapia pela rota oral tende a elevar os níveis de HDL, principalmente a fração de HDL₂, associada a maior cardioproteção. Esse efeito é decorrente do bloqueio da enzima lipase hepática que converte HDL₂ em HDL₃. O estrogênio age também elevando os níveis de triglicerídeos, provavelmente por aumentar a produção hepática de *very low density lipoprotein cholesterol* (VLDL) e por diminuir os níveis séricos de LDL pelo aumento do número de receptores para esta lipoproteína, que passa a ser metabolizada em maior velocidade (8).

O *Lipid Research Program* verificou que a redução de 10,4% nos níveis de LDL levou a uma diminuição de 16 a 19% no risco de desenvolvimento de coronariopatia e que, para uma elevação de 10 mg/dl no HDL, há uma diminuição de 42% no risco cardiovascular (9). Esses dados são semelhantes aos do *Framingham Heart Study*, que, para essa elevação de HDL, observou 50% de redução no risco cardiovascular (10).

Existem várias formulações de estrógeno, sendo que, na rota oral, as mais utilizadas são o etinilestradiol e os estrógenos eqüinos conjugados. Essas formulações, na rota oral, são convertidas predominantemente em estrona, cuja atividade biológica é menor que o estradiol. O estradiol natural (17 β -estradiol) tem baixa absorção oral e é inativado durante a passagem hepática. Para melhorar a absorção, deverá ser micronizado ou administrado em compostos derivados como etinil, valerato, enantato e cipionato de estradiol. De todos esses compostos, o etinilestradiol é o composto de maior potência, por sofrer menor conversão à estrona. Os estrógenos eqüinos conjugados são a composição que mais sofre indução de síntese enzimática no fígado (11).

As dosagens de estrógeno oral variam e tem uma dependência individual. O objetivo é manter níveis séricos de estradiol entre 30 e 50 pg/mL, observados no início da fase folicular. Na prática, as doses variam de 0,3 a 1,25 mg para os estrógenos eqüinos conjugados, de 1,0 a 2,0 mg para o estradiol micronizado, de 0,01 a 0,02 mg para o etinilestradiol e de 2,0 mg para o valerato de estradiol (2).

Quanto à bioequivalência dos estrógenos rotineiramente utilizados para a reposição, os adesivos que liberam 50 μ g de estradiol por dia equivalem a 0,625 mg de estrogênios eqüinos conjugados e a 2 mg de estradiol micronizado por dia (11).

Na tabela 1, apresentamos os estrogênios utilizados na terapia de substituição hormonal, com doses e vias de administração existentes no mercado farmacêutico brasileiro.

A reposição estrogênica pela via transdérmica não apresenta primeira passagem hepática e isso faz com que não ocorram os efeitos indesejáveis na coagulação ou na pressão arterial, embora não favoreça o perfil lipídico. A sua utilização, do ponto de vista fisiológico, propicia concentrações plasmáticas mais estáveis de estradiol e reduz sua conversão à estrona, quando comparada à rota oral. As doses também sofrem variação individual, oscilando entre

50 e 100 mg de 17 β -estradiol duas vezes por semana (na via transdérmica) ou 1,5 g de gel (via percutânea) contendo 1,5 mg de estradiol hemi-hidratado (11).

A reposição com progestágenos é importante para evitar hiperplasia endometrial nas pacientes com útero intacto. Pode ser utilizada de maneira cíclica ou contínua. Na terapia cíclica, pode-se utilizar progestágenos, associados à estrogênio-terapia, do 14º ao 26º dia do ciclo. As formulações são acetato de medroxiprogesterona 2,5 a 10 mg, progesterona micronizada 100 a 200 mg, noretindrona 0,35 mg, gestodeno 0,75 mg ou levonorgestrel 0,075 mg, entre outras (12).

A adição de progestágenos ao esquema de reposição estrogênica leva a uma diminuição de HDL e triglicerídeos. Os progestágenos parecem diminuir a produção de VLDL e aumentam a atividade da lipase hepática. Os efeitos sobre LDL são dependentes do seu grau de androgenicidade. Os derivados da 19-nortestosterona são os que mais revertem os efeitos das modificações estrogênicas benéficas das lipoproteínas. A progesterona micronizada tem sido apontada como a de ação mais neutra (12,13).

Na tabela 2, podemos observar os progestagênios mais freqüentemente utilizados e suas doses mínimas efetivas diárias para a proteção endometrial.

No tratamento do climatério, a terapia de reposição estroprogestagênica (TREP) tem sido alvo de muitas controvérsias. Desde a publicação dos dados de estudos como o *Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study* (HERS), as indicações da TREP modificaram drasticamente (14). Esse estudo avaliou 2.763 mulheres com doença coronariana prévia, pós-menopáusicas idosas, mostrando um aumento no número de eventos coronarianos durante o primeiro ano de uso e benefício cardiovascular ausente ao longo dos anos de acompanhamento (14,15). O mesmo *trial* demonstrou também que a terapia

estroprogestagênica causou um aumento do número de casos de tromboembolismo venoso nessas mulheres (14,16).

Quatro anos mais tarde, em julho de 2002, foram publicados os resultados do *Women's Health Initiative* (WHI), que avaliou 16.608 mulheres pós-menopáusicas, sem evidência de coronariopatia, com útero intacto, média de idade de 63 anos e que utilizaram 0,625 mg de estrogênios eqüinos conjugados e 2,5 mg de acetato de medroxiprogesterona ou placebo. O excesso de risco absoluto por 10.000 pessoas/ano atribuível a esse esquema de reposição foi de sete vezes mais eventos cardiovasculares, oito mais casos de AVC, oito mais casos de câncer de mama invasor e oito mais casos de embolia pulmonar. A redução de risco absoluto por 10.000 pessoas/ano foi de seis menos casos de câncer colorretal e cinco menos casos de fratura de quadril (17).

Em agosto de 2003, foram publicados os resultados do *The Million Women Study Group*, o qual avaliou 1.084.110 mulheres e investigou o efeito de tipos específicos de TREP e incidência de câncer de mama. De todas as mulheres estudadas, evidenciou-se 9.364 casos de câncer de mama invasor e 637 mortes por câncer de mama, em 2,6 e 4,1 anos de seguimento, respectivamente. As usuárias correntes da TREP tiveram um risco aumentado de 66% de desenvolver câncer de mama e de 22% de morte em relação às mulheres que nunca fizeram uso dessa terapia. Dentre as usuárias correntes, em 2,6 anos de seguimento, as que utilizaram estrogênio isoladamente tiveram 30% a mais de risco de câncer de mama invasor. As pacientes que utilizaram a combinação estroprogestagênica e as que usaram tibolona tiveram 100% e 45% a mais de chance de desenvolvimento dessa patologia, respectivamente.

Entretanto, uma questão ainda não respondida é se a hormonioterapia causa câncer de mama ou é um agente promotor da carcinogênese em tumores já existentes. Os achados que suportam o impacto de tumores pré-existentes incluem a concordância entre todos os estudos

de que não há aumento de risco em usuárias passadas e de que o rápido diagnóstico de câncer de mama inicia-se dentro de poucos anos após início da terapia (18).

Em fevereiro de 2004, o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH) solicitou que fosse suspenso o braço do WHI que avaliou o uso de estrogênio isolado *versus* placebo, em 11.000 pacientes pós-menopáusicas histerectomizadas. Analisando os dados após quase 7 anos de seguimento, os pesquisadores concluíram que o uso exclusivo de estrogênio não parece afetar a incidência de problemas cardíacos, ou seja, não aumenta nem diminui o risco desse tipo de problema. Paralelamente, houve aumento do risco de AVC, com RR de 1,39 (IC 95% 1,10-1,77) e redução do risco de fratura de colo de fêmur (RR = 0,61, IC 95% 0,41-0,91). Não houve aumento do risco de câncer de mama (RR = 0,77, IC 95% 0,59-1,01) nestes 7 anos de estudo (19).

A Sociedade Norte-Americana de Menopausa (NAMS), em setembro de 2003, posicionou-se sobre o uso de TREP em mulheres peri e pós-menopáusicas, salientando que estrogênios e progestágenos não deveriam ser utilizados para prevenção primária ou secundária de doença cardiovascular ou AVC. Além disso, reiterou a idéia de que a principal indicação para o uso da TREP sistêmica consiste no tratamento de sintomas vasomotores moderados a severos. Sintomas locais como dispareunia, ressecamento vaginal e vaginite atrófica devem ser tratados com estrogênio tópico (20).

Dados de estudos como WHI e HERS não devem ser extrapolados para mulheres com falência ovariana prematura (menos de 40 anos), menopausa prematura ou que iniciaram TREP naquele momento. O risco/benefício parece ser mais favorável para essas mulheres. Uma explicação plausível para esses dados reside no fato de que o WHI e o HERS estudaram pacientes com mais idade, com média de idade de 63 e 67 anos, respectivamente. Além disso, no caso do estudo HERS, as mulheres estudadas tinham doença coronariana conhecida e, das

pacientes do WHI, 36% tinham hipertensão, 13% apresentavam dislipidemia, 4,4% tinham diabetes, 10,5% eram fumantes, e 34,2% apresentavam sobrepeso (20).

Em outubro de 2004 e março de 2007, a NAMS reiterou as informações supracitadas e salientou que as pacientes com menopausa prematura e falência ovariana prematura apresentam precocemente osteoporose e doença coronariana. Entretanto, não está evidenciado em ensaios clínicos se a estrogênio terapia isolada ou combinada com progestágeno reduzirá a morbimortalidade referente a essas condições (21,22).

Essas sugestões devem ser mais importantes para as pacientes com hipogonadismo hipogonadotrófico associado ao pan-hipopituitarismo. Nessas mulheres, a carência estrogênica provoca diversas e graves alterações clínicas que podem reduzir sua expectativa de vida (4,23,24). Além disso, a escolha da via de administração oral tanto de estrógenos quanto de progestágenos pode interferir na absorção, ação, metabolização e efeitos clínicos das reposições de outros hormônios, especialmente tiroxina, glicocorticóides e GH (1).

IV - Interações da reposição com estrógenos e progestágenos nas outras deficiências hormonais

No que se refere ao eixo hipotálamo/hipófise/tireóide, é bem conhecida a elevação dos níveis de *thyroxin-binding-globulin* (TBG) induzida pelos estrógenos, diminuindo, portanto, a fração de hormônio livre. Assim, pacientes em uso de terapia de reposição estrogênica ou em uso de anticoncepcionais orais poderão apresentar um aumento na necessidade de tiroxina (2,25,26). Arafah demonstrou um aumento da TBG de 50% em mulheres utilizando estrógenos eqüinos conjugados na dose de 0,625 mg/dia, tanto naquelas com função tireoidiana normal quanto nas pacientes com hipotireoidismo (26). Esse aumento nos níveis de TBG induzido pela estrogênio terapia é dose-dependente e ocorre quando a via de

administração é oral, isoladamente ou associada com progestágeno. O estradiol transdérmico não aumenta as concentrações da TBG, evidenciando um efeito de primeira passagem hepática (25,26). Em mulheres normais, o aumento da TBG induzido pela estrogênio-terapia oral provoca elevação da tiroxina (T4) total sérica sem modificação nos níveis de T4 livre. Essa alteração é importante para a monitorização da reposição de T4 desses pacientes, que deve ser realizada através da medida de T4 livre e não da T4 total.

Os estrógenos orais aumentam a *corticosteroid-binding globulin* (CBG) e, portanto, resultam em níveis falsamente elevados de cortisol na maior parte dos radioimunoensaios de rotina (que medem o cortisol total, e não a fração livre). Resultados falso-positivos são vistos em 50% das mulheres que fazem uso de contraceptivos orais. Além disso, o aumento da CBG é considerado como uma medida do grau de “estrogenicidade” dos contraceptivos orais. Esse aumento da CBG é dose-dependente dos estrógenos, e o componente progestacional parece não interferir nesse aumento (27-30).

A estrogênio-terapia oral produz uma queda significativa nos níveis séricos de IGF-1, e a dose de GH deve ser aumentada para manter níveis de IGF-1 adequados (31). Assim, a rota estrogênica oral parece antagonizar as ações biológicas do GH, agravando as anormalidades de composição corporal e o metabolismo em geral (31-33). A via estrogênica transdérmica, entretanto, não modifica os níveis séricos de IGF-1, podendo até produzir um aumento (34-36). O emprego de progestágenos com efeito androgênico pode reverter o efeito de diminuição de IGF-1 induzido pelos estrógenos orais. Dentre essas substâncias, incluímos a medroxiprogesterona, o desogestrel e a noretisterona, em ordem crescente de “androgenicidade” e de aumento dos níveis séricos de IGF-1 (37).

V - Estrógenos e ação do GH

A. Efeitos estrogênicos sobre o eixo GH/IGF-1

O GH regula o crescimento e a composição corporal através de um processo complexo que combina ações mitogênicas e metabólicas, que utilizam mecanismos dependentes e independentes de IGF-1. O fígado tem um papel importante nesse processo metabólico, pois é um órgão-alvo na ação do GH, responsável pelos níveis séricos de IGF-1 e também órgão-alvo dos hormônios sexuais (38).

Os estrógenos são responsáveis pelo desenvolvimento sexual secundário e têm um papel fundamental na função reprodutiva feminina. Existe uma relação estreita entre os estrógenos e o GH na regulação do crescimento e do desenvolvimento na puberdade (39).

A interação regulatória dos estrógenos sobre o GH pode ocorrer em vários níveis, tais como secreção, *clearance* e ação. A maioria dos estudos aborda os efeitos estrogênicos na secreção do GH em nível hipotalâmico e hipofisário. Entretanto, existem fortes evidências de que os estrógenos modulam a ação do GH, independente de sua secreção, através de mecanismos hepáticos (38). Essas observações advêm do fato de que os estrógenos administrados pela via oral levam a uma perda na ação metabólica do GH e de que os estrógenos influenciam a resposta da terapia com GH em adultos (31).

Em mulheres pós-menopáusicas, tanto os estrógenos endógenos quanto os exógenos exercem marcada influência sobre o eixo GH/IGF-1. Ho et al. demonstraram que a secreção espontânea de GH e os níveis séricos de IGF-1 são inferiores em mulheres pós-menopáusicas quando comparadas às pré-menopáusicas e que estes hormônios correlacionam-se positivamente com os níveis de estradiol livre (40).

O GH circula no plasma ligado a proteína ligadora do hormônio de crescimento (GHBP), sendo o fígado a maior fonte dessa proteína ligadora. A GHBP altera a distribuição e a farmacocinética do GH e parece modular a ação do mesmo (41).

A.1 - Rota de administração

A rota de administração dos estrógenos tem um impacto importante sobre os níveis séricos de IGF-1 tanto em mulheres pós-menopáusicas quanto em pacientes com hipopituitarismo (31,36,42).

A terapia com estrógeno oral em mulheres pós-menopáusicas aumenta a secreção de GH e de GHBP e diminui os níveis séricos de IGF-1. As seqüelas metabólicas do uso da administração estrogênica oral, amplamente utilizada em nosso meio, incluem a supressão da oxidação lipídica e mudanças de composição corporal, prejudicando a ação do GH (31,32,43).

Presume-se que o estrógeno oral iniba a secreção/produção de IGF-1 através de um efeito de primeira passagem hepática, causando, em mulheres normais, um aumento da secreção de GH através de inibição do *feedback* negativo de IGF-1 (38,44).

A IGF-1 circula no plasma em 75% das vezes através de um complexo ternário com proteína ligadora número 3 do IGF-1 (IGFBP-3) e subunidade ácido-lábil (ALS). A IGFBP-3 não apresenta modificações significativas com o uso de estrógeno oral (35).

Estudos com a rota estrogênica transdérmica, entretanto, demonstraram efeitos diversos nos níveis séricos de GH e de IGF-1. A administração de 17 β -estradiol transdérmico em mulheres GH-deficientes demonstrou ausência de efeito sobre as concentrações de GH e GHBP e ausência de efeito ou aumento nos níveis séricos de IGF-1. Esses achados são consistentes com a hipótese previamente descrita de que os estrógenos transdérmicos não sofrem o efeito de primeira passagem hepática, entrando diretamente na circulação sistêmica,

e, portanto, não trazem repercussões sobre as concentrações de IGF-1 e de GH. Os níveis séricos de IGFBP-3 também não sofrem modificações com o uso de estrógenos transdérmicos (35).

Weissberger et al. estudaram o impacto da rota estrogênica sobre o eixo GH/IGF-1 em mulheres pós-menopáusicas, onde administraram 20 µg de etinilestradiol oral e 100 µg de 17 β-estradiol transdérmico. Verificaram as concentrações de GH e IGF-1 no estado basal e 2 meses após o início da terapia. Ambos os regimes resultaram em reduções semelhantes de LH e FSH, indicando bioequivalência estrogênica. O uso da rota oral resultou em aumento dos níveis séricos de GH e redução de IGF-1. A rota transdérmica não afetou as concentrações de GH e induziu um pequeno aumento, porém significativo, nos níveis séricos de IGF-1 (36).

Bellantoni et al. compararam o efeito da rota estrogênica oral e transdérmica sobre os níveis séricos de GH, IGF-1 e IGFBP-3 em mulheres pós-menopáusicas jovens (menos de 62 anos) e idosas (mais de 62 anos). O estrógeno oral aumentou a secreção espontânea de GH, diminuiu os níveis séricos de IGF-1 e não alterou as concentrações de IGFBP-3. O estrógeno transdérmico, entretanto, não alterou a secreção de GH e IGF-1, mas reduziu os níveis de IGFBP-3 em pós-menopáusicas idosas (34).

A maioria dos investigadores confirmou o efeito de diminuição de IGF-1 da rota estrogênica oral (31,36,42,44-46). Entretanto, houve relatos de ausência de efeito (47) e até redução de IGF-1 (48). Estudos em ratos demonstraram que a administração estrogênica oral inibe a expressão hepática do RNA mensageiro (49). Assim, a produção hepática de IGF-1 é suprimida por um efeito farmacológico do estradiol oral. O mecanismo de primeira passagem hepática também explica as diferenças de efeito dos estrógenos orais e transdérmicos sobre os níveis séricos de GHBP, pois o fígado é rico em receptores para GH, e a GHBP é derivada do mesmo (36).

Assim, a redução de IGF-1 induzida por estrógenos orais pode ser mais importante em pacientes com hipopituitarismo, uma vez que nelas não ocorre elevação compensatória do GH.

A figura 1 demonstra que o aumento da secreção de GH não é decorrente de um efeito estrogênico, mas secundário à perda do *feedback* negativo do IGF-1 sobre a hipófise (36).

Alguns estudos apontam que os progestágenos com ação androgênica revertem o efeito de diminuição dos níveis séricos IGF-1 induzida pelos estrógenos orais (50,51). Progestágenos neutros não apresentam esse efeito, porém quanto maior a potência androgênica, maior será a reversão do efeito de diminuição de IGF-1 (51).

A.2 - *Formulações estrogênicas*

Os tipos de estrógenos utilizados na maioria dos estudos supracitados não são idênticos (36,44,52,53). Conseqüentemente, os dados não excluem totalmente a possibilidade de que os efeitos contrastantes entre preparações estrogênicas orais e transdérmicas reflitam diferenças químicas intrínsecas. Estudos demonstram que a indução de síntese protéica pelo etinilestradiol parece ser aparentemente maior do que sua habilidade na supressão das gonadotrofinas, comparando com outras formulações estrogênicas. Esses efeitos hepáticos não foram totalmente eliminados quando o etinilestradiol foi administrado pela via vaginal (54,55).

Kelly et al. compararam os efeitos de três formulações estrogênicas orais (etinilestradiol 20 µg, estrogênios eqüinos conjugados 1,25 mg e valerato de estradiol 2 mg), e todas elas induziram queda nos níveis de LH e FSH, com elevações dos níveis séricos de SHBG e angiotensinogênio. As concentrações de GHBP também aumentaram e os três tipos de estrógenos reduziram significativamente os níveis de IGF-1. As concentrações médias de

GH em 24 horas aumentaram durante os tratamentos, observando-se relação inversa com as concentrações de IGF-1. Portanto, infere-se que esse aumento das concentrações de GH seja secundário à inibição do *feedback* negativo pelo IGF-1. O aumento das concentrações de GHBP com os estrógenos orais indica que essa proteína sofre indução hepática de maneira similar à que ocorre com o angiotensinogênio e a SHBG (42).

Friend et al. demonstraram que as concentrações séricas de IGF-1 reduziram significativamente após administração de estrógenos transdérmicos em doses supra-fisiológicas (sete vezes maior que a dose terapêutica), acompanhadas por um aumento nas concentrações de GH. Essas alterações são indistinguíveis daquelas que ocorrem após a administração de 2 mg de estradiol oral, indicando que a alta concentração de estrógeno é que leva à inibição da síntese hepática de IGF-1, independente da circulação portal ou sistêmica (46).

A.3 - Efeitos sobre as IGFBP

Até o momento, foram identificadas seis IGFBP. A IGF-1 circula no plasma ligada quase que totalmente à IGFBP-3 e à ALS, ambas reguladas pelo GH. E esse complexo ternário altera a farmacocinética, a distribuição e a biodisponibilidade do IGF-1 (56). A ALS é sintetizada exclusivamente pelo fígado, enquanto que muitos tecidos periféricos sintetizam IGFBP-3 (57). A ALS, à semelhança do que ocorre com o IGF-1, sofre efeito da rota e da dose dos estrógenos e não é afetada pelo tipo de estrógeno (58).

Os efeitos dos estrógenos orais sobre a IGFBP-3, entretanto, são menos consistentes. Alguns estudos relatam efeito supressivo dos estrógenos orais sobre os níveis séricos de IGFBP-3, e esse efeito é semelhante nos mais variados tipos de estrógenos, tanto em mulheres pós-menopáusicas como em hipogonádicas GH-deficientes (51,58). Outros estudos,

entretanto, demonstraram ausência de efeito dos estrógenos orais sobre a IGFBP-3 (59,60). As razões para essas diferenças não estão totalmente claras, mas a IGFBP-3 hepática pode ser diluída por outros tecidos periféricos, os quais também são fontes dessa proteína ligadora, principalmente se não estiver ligada ao complexo ternário (56). A redução observada nos valores séricos de IGFBP-3 pelos estrógenos orais poderia advir secundariamente de uma redução primária de IGF-1 e ALS. A IGFBP-3 é sintetizada nas células de Kupffer, enquanto que o IGF-1 e a ALS são sintetizados pelos hepatócitos, o que poderia explicar essa diferença na regulação pelos estrógenos (57).

Em mulheres hipogonádicas e GH-deficientes, os estrógenos orais reduzem significativamente tanto a IGFBP-3 como a ALS, indicando que esses efeitos são independentes do GH (58). Assim sendo, os estrógenos exercem efeito inibitório em todos os componentes do complexo ternário do IGF-1, relacionados à dose e à via de administração.

A proteína ligadora número 1 do IGF-1 (IGFBP-1) também é uma proteína sintetizada em nível hepático, regulada pela insulina e pelo estado nutricional do paciente. Liga-se à fração de IGF-1 livre e atenua o efeito hipoglicemiante do fator de crescimento (61). Os estrógenos exercem um efeito dependente da rota sobre os níveis circulantes de IGFBP-1, uma vez que a rota oral aumenta seus níveis (44,51,53,62). Esse aumento da IGFBP-1 levará a uma redução da taxa de IGF-1 livre, reduzindo a sua atividade (44,53,62).

As proteínas ligadoras número 2, 4, 5 e 6 do IGF-1 (IGFBP-2, IGFBP-4, IGFBP-5 e IGFBP-6) são sintetizadas em nível extra-hepático. A IGFBP-5, derivada do tecido ósseo, é regulada pelo GH. Pouco se sabe sobre as interações regulatórias entre os estrógenos e essas proteínas ligadoras (63).

B - Efeitos biológicos

Os três maiores componentes do eixo GH/IGF-1 (GH, IGF-1 e GHBP) são afetados pela administração de estrógenos orais. Recentes estudos também têm analisado se os estrógenos exercem efeitos biológicos dependentes da rota (38).

B.1 - Osso e tecido conjuntivo

O GH promove o crescimento de vários tecidos, incluindo o conjuntivo e o ósseo. Durante o tratamento com GH, ocorre um aumento em pró-peptídeos para colágeno tipo I e tipo III, estimulando a formação óssea e a síntese de colágeno (64,65). O GH também eleva a osteocalcina sérica, que é um marcador de formação óssea (65). Esses efeitos anabólicos do GH parecem ser mediados pelo IGF-1 em função de receptores específicos de IGF-1 presentes nos fibroblastos e osteoclastos (66,67). O IGF-1 estimula também a síntese de colágeno e a replicação dessas células (68).

Os marcadores de tecido conjuntivo e ósseo são influenciados pela rota de administração estrogênica. Níveis séricos de osteocalcina, procolágeno tipo I e III, assim como o que ocorre com os níveis séricos de IGF-1, declinam após o uso de estrógeno oral, apesar do aumento dos níveis circulantes de GH. Esses marcadores, entretanto, aumentam durante a estrogênio terapia transdérmica (69).

A dissociação do eixo GH/IGF-1 induzida pelos estrógenos orais sinaliza a importância do IGF-1 no controle do crescimento tissular periférico. De acordo com a hipótese da somatomedina, a queda nos níveis séricos de IGF-1 induzida pelos estrógenos orais será acompanhada de uma redução da atividade metabólica tissular periférica, visibilizada através da redução dos marcadores dos tecidos ósseo e conjuntivo (70).

B.2 - Metabolismo da glicose

O estímulo da secreção de GH induzida pela estrogênio-terapia oral pode levar a prejuízos no metabolismo dos carboidratos, pois o GH causa resistência insulínica (36,42).

Estudos prévios com contraceptivos orais demonstraram associação com a perda da tolerância à glicose, hiperinsulinemia e redução da sensibilidade insulínica (71,72).

A maioria dos estudos com TREP em mulheres pós-menopáusicas para avaliar o metabolismo dos carboidratos apresentou resultados conflitantes, alguns demonstrando deterioração da tolerância à glicose e hiperinsulinemia e outros sem mudanças significativas (73-75).

Estudos epidemiológicos com TREP em mulheres pós-menopáusicas demonstraram redução da glicemia de jejum e dos níveis séricos de insulina. Os dados conflitantes estavam relacionados ao uso de doses e formulações de TREP diversas, bem como à falha da avaliação do efeito estrogênico isolado ou combinado com progestágenos (76).

O impacto da rota estrogênica sobre o metabolismo dos carboidratos apresenta importância clínica relevante. Estudos com estrógenos orais demonstraram um aumento da secreção de GH em mulheres pós-menopáusicas, independente da formulação estrogênica. O uso de estrógenos transdérmicos não alterou os níveis de GH. E como o GH piora a ação da insulina, é importante ressaltar que a via de administração estrogênica pode ter resultados diversos sobre o metabolismo dos carboidratos (36,42).

O'Sullivan e Ho, através da técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico para avaliar a sensibilidade insulínica, observaram que a taxa média de infusão de glicose para manter euglicemia foi discretamente menor durante o uso de estrógeno oral do que durante o de estrógeno transdérmico, porém não significativa. Entretanto, durante o uso de estrógeno transdérmico, a concentração média de ácidos graxos livres foi suprimida pela insulina. Esses

dados sugerem que a insulina inibe a lipólise de maneira mais eficaz durante o uso de estrógenos transdérmicos e, assim sendo, os níveis de ácidos graxos livres são uma medida da ação da insulina no tecido adiposo. Comparada à rota oral, a estrogênio-terapia transdérmica está associada à melhora tênue, mas significativa, da ação da insulina sobre o metabolismo lipídico. E a rota da terapia de reposição estrogênica parece não ter um impacto maior sobre o metabolismo da glicose em mulheres pós-menopáusicas (77).

Estudos com mulheres jovens em uso de anticoncepcional oral (ACO) apontam um efeito negativo de doses mais potentes de estrógenos (20-30 µg de etinilestradiol) sobre a sensibilidade insulínica. Essas mulheres exibiram 30-40% menos de sensibilidade à insulina (78,79). Perseghin et al. observaram que o grupo tratado com estrógenos apresentou níveis elevados de ácidos graxos livres, triglicerídeos e β-hidroxibutirato em relação ao grupo-controle (78). Como o ACO reduz IGF-1 e aumenta os níveis de GH, alguns estudos sugerem que o desenvolvimento de insulino-resistência seja mediado pelo GH (43,80).

B.3 - Oxidação de substrato

Estudos em pacientes GH-deficientes adultos utilizando terapia de substituição com GH demonstraram que este tem um papel importante na regulação da oxidação de substrato e da composição corporal (81-83). O estímulo da oxidação lipídica e da síntese protéica durante o uso de GH leva à queda progressiva na massa gorda e a um aumento da massa magra em indivíduos adultos GH-deficientes (82).

O GH estimula o gasto energético e o metabolismo oxidativo da gordura, mecanismos importantes para a redução da massa gorda. O fígado tem um papel importante no metabolismo da gordura e é o local onde os ácidos graxos são oxidados, após a liberação dos locais de estoque periférico de gordura, em maior proporção (82,83).

Os estrógenos administrados pela rota oral podem suprimir a oxidação lipídica, através de um mecanismo de primeira passagem hepática. O'Sullivan et al. compararam os efeitos da terapia com estrógenos oral e transdérmico sobre a oxidação do substrato, em um estudo com 18 pacientes pós-menopáusicas, randomizado e com *crossover*. Não foram identificadas diferenças significativas sobre o gasto energético e oxidação lipídica basal entre os grupos. Entretanto, quando comparada à rota transdérmica, a rota oral de administração estrogênica suprimiu a oxidação lipídica em um nível superior. A supressão da oxidação lipídica foi acompanhada de um estímulo na oxidação de carboidratos (84).

Não está bem definido em qual proporção a oxidação lipídica é reduzida pelos estrógenos orais. Um possível mecanismo envolvido decorre do aumento nos níveis de GHBP, o qual poderia atenuar os efeitos estimulatórios do GH endógeno sobre a oxidação de gorduras. O achado de perda da sensibilidade insulínica durante o tratamento com estrógeno oral constitui um argumento contrário a essa possibilidade. Outro mecanismo pode envolver um efeito direto do estrógeno sobre o fígado, que é o maior sítio do metabolismo dos ácidos graxos. Estudos *in vitro* demonstraram que as concentrações farmacológicas de estrógenos reduzem a cetogênese (produto da oxidação dos ácidos graxos) e aumentam a incorporação de ácidos graxos em triglicerídeos (85). Esses achados estão de acordo com as observações clínicas de que os estrógenos orais estimulam a síntese hepática de triglicerídeos e aumentam os níveis séricos dos mesmos (86).

B.4 - Composição corporal

O'Sullivan et al. estudaram mulheres pós-menopáusicas, as quais foram randomizadas para receber estrógeno oral e estrógeno transdérmico, e observaram que, após 6 meses, não houve diferença significativa de peso corporal entre e dentro dos grupos. Porém, observaram-

se diferentes efeitos na massa magra e na massa gorda entre os dois grupos de tratamento. A terapia oral, comparada à transdérmica, levou a um aumento significativo da massa gorda de 1,2 kg, equivalente a 5% de mudança na gordura corporal. Não houve diferença significativa durante o tratamento com estrógenos transdérmicos. No grupo oral, também ocorreu perda na massa magra, equivalente a 3% de mudança comparada à observada no grupo transdérmico. Essa redução significativa da massa magra foi de $0,8 \pm 0,3$ kg com o grupo oral, e houve um aumento pequeno e não-significativo da massa magra durante a fase transdérmica (84).

Especula-se que a supressão hepática prolongada de IGF-1 pelo uso de estrógenos orais acarrete uma perda na massa protéica e supressão da oxidação lipídica, com conseqüente acúmulo de gordura corporal. As diferentes vias de administração de estrógenos induziram mudanças significativas na composição corporal, sem modificar o peso corpóreo. A mudança na massa magra também aponta a importância nos níveis séricos de IGF-1 na regulação positiva do anabolismo (83,84).

Estudos que abordam o efeito dos estrógenos sobre o peso e gordura corporais na pós-menopausa apresentam resultados conflitantes, principalmente devido a viés de seleção das pacientes e, também, devido às diferenças comportamentais e sociodemográficas entre usuárias e não-usuárias (87-91). Entretanto, dois estudos prospectivos randomizados apontaram achados diferentes na gordura corporal total, apesar de utilizarem métodos similares para quantificá-la (92,93). Existe um consenso entre a maioria dos estudos de que o tratamento com estrógenos induza à redistribuição da gordura corporal do tronco para as áreas corporais inferiores, explicadas pelas diferenças de sensibilidade do tecido adiposo aos estrógenos e, possivelmente, mediadas pela atividade da lipase lipoprotéica, enzima responsável pela hidrólise de triglicerídeos a ácidos graxos livres (87,93).

B.5 - Metabolismo das lipoproteínas e marcadores inflamatórios

O GH regula o metabolismo das lipoproteínas e tem influência sobre os níveis circulantes de marcadores inflamatórios (94). Os efeitos dos estrógenos sobre o metabolismo das lipoproteínas e sobre os marcadores inflamatórios são dependentes da via de administração dos mesmos (95).

O uso de estrógenos orais reduz o colesterol total e o LDL-colesterol, aumentando os níveis de HDL-colesterol e de triglicerídeos. Essas mudanças decorrem do aumento da expressão do receptor hepático de LDL, acarretando o catabolismo do LDL-colesterol, e estimulam a secreção hepática de triglicerídeos ricos em VLDL (95). Esses efeitos dos estrógenos orais sobre o metabolismo do LDL podem ser mediados através do aumento da secreção de GH. Estudos com roedores demonstraram que os estrógenos regulam o receptor hepático de LDL apenas na presença de GH. Estudos *in vitro* com fígado humano observaram que o GH estimula a expressão desse receptor (96,97). O GH aumenta o catabolismo do LDL e da apolipoproteína B através desse mecanismo (96,97), o qual estimula a síntese hepática de VLDL e a secreção de triglicerídeos (98). O GH melhora o *turnover* do VLDL e do LDL, o que pode explicar o aumento de HDL e o aumento de LDL (94,99).

Os estrógenos administrados pela rota transdérmica exercem efeitos modestos sobre o colesterol total, LDL e HDL. Entretanto, ocorre queda nos níveis séricos de triglicerídeos, mesmo na ausência de efeitos mediados pelo GH. Como os estrógenos orais estimulam a secreção de GH, infere-se que alguns desses efeitos sobre o metabolismo das lipoproteínas sejam mediados pelo mesmo (8,100).

A proteína C reativa (PCR) é um marcador inflamatório fortemente associado com o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular em ambos os sexos (101,102). Existem evidências de que muitos marcadores inflamatórios sejam regulados pelos estrógenos. Ocorre

aumento dos níveis séricos de PCR e de citocinas pró-inflamatórias, tais como interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), durante a menopausa (102,103). Estudos *in vitro* demonstraram que os estrógenos inibem diretamente a expressão do gen da IL-6 e do TNF- α , ambos secretados pelas células endoteliais, células da musculatura lisa vascular e monócitos/macrófagos (103).

Entretanto, esses efeitos inibitórios dos estrógenos são conflitantes. Alguns estudos com mulheres pós-menopáusicas em terapia de substituição com estrógenos demonstraram níveis mais elevados de PCR nessas mulheres (104). O efeito desse tratamento é dependente da rota estrogênica, ocorrendo apenas com estrógenos administrados por via oral, provavelmente devido a um efeito de primeira passagem hepática. Com isso, ocorre um aumento na síntese hepática de PCR, que representa um efeito indesejável do estrógeno oral, implicando na função vascular (104).

Existem fortes evidências de que o GH regula negativamente muitas citocinas pró-inflamatórias. Os níveis séricos de PCR, IL-6 e TNF- α estão elevados em adultos com deficiência de GH, sofrendo queda após o início do tratamento com GH (105,106). A produção monocitária de IL-6 e TNF- α está aumentada em pacientes com deficiência de GH e reduz após o início do tratamento com GH (106). Os níveis séricos de PCR estão baixos em pacientes com acromegalia e aumentam com o controle da doença (107). Esses dados demonstram que o GH direta ou indiretamente reduz a inflamação, modulando os níveis séricos das citocinas e os marcadores inflamatórios. Assim, pacientes hipogonádicas e GH-deficientes apresentam concentrações séricas elevadas de PCR, IL-6 e TNF- α (103,106).

C. Implicações terapêuticas

C.1 - Hipopituitarismo

Nas mulheres com hipopituitarismo, a escolha da rota de administração estrogênica é importante porque elas são GH-deficientes e, por isso, já têm níveis baixos de IGF-1. Portanto, a via oral não deve ser a primeira escolha e sim a rota transdérmica (31,58). Essas observações explicam porque alguns investigadores relataram níveis de IGF-1 mais baixos em pacientes com hipopituitarismo em relação aos homens, apesar da resposta similar ao teste de hipoglicemia insulínica. Entretanto, nenhum dos estudos comparou níveis de IGF-1 entre usuárias e não-usuárias de estrógenos (108-110).

Pacientes hipopituitárias são mais suscetíveis aos efeitos hepáticos da administração de estrógenos orais. O grau da supressão de IGF-1 pelos estrógenos orais é maior em pacientes GH-deficientes do que em pacientes pós-menopáusicas (hipogonádicas e GH-suficientes). Assim, a administração de estrógenos orais pode agravar as anormalidades metabólicas e de composição corporal pré-existentes e decorrentes do estado de deficiência de GH. Pelo mesmo motivo, mulheres com síndrome de Laron (insensibilidade ao GH) não devem usar estrógenos pela administração oral (111).

C.2 - Terapia de reposição com GH no adulto

C.2.a - Níveis séricos de IGF-1

Wolthers et al. compararam as mudanças em IGF-1, na oxidação lipídica e no metabolismo protéico em pacientes com hipopituitarismo em tratamento com GH, durante a administração de estrógenos oral e transdérmico. O tratamento com GH aumentou os níveis séricos de IGF-1, dependente da dose de GH, em ambos os grupos de tratamento com estrógenos. Entretanto, a média dos valores de IGF-1 foi significativamente menor durante o

uso de estrógenos orais e em doses diferentes de GH. A oxidação lipídica pós-prandial e a síntese protéica foram estimuladas pelo GH, mas mantiveram-se significativamente menores durante o tratamento com estrógenos orais. Dessa maneira, os estrógenos exercem atenuação da ação do GH, dependentes da rota, em mulheres com deficiência de GH (31).

Diversos estudos têm relatado níveis menores de IGF-1 em mulheres GH-deficientes do que em homens, com doses similares de GH (112). Além disso, a dose de GH necessária para manter níveis adequados e comparáveis de IGF-1 é maior em mulheres do que em homens. Embora esses estudos não tenham uma análise do estado gonadal e da terapia estrogênica, presume-se que a menor sensibilidade ao GH nas mulheres advinha do uso concomitante do estrógeno oral, correspondendo à forma mais utilizada de estrógenos (113-116).

Cook et al. observaram que a necessidade de GH em homens não foi diferente de mulheres que não estavam utilizando estrógenos, mas naquelas mulheres que estavam em uso de estrógenos orais a dose necessária de GH foi duas vezes maior (45).

Janssen et al. relataram que a troca de estrógenos orais para estrógenos transdérmicos aumentou os níveis séricos de IGF-1 em 30% durante o tratamento com GH (35).

C.2.b - Composição corporal

As mudanças de composição corporal ligadas ao gênero, em resposta à terapia com GH em adultos com hipopituitarismo, têm sido freqüentemente observadas por diversos autores, independente da técnica utilizada para medi-la (112,113,117). Johansson et al. observaram que o aumento na massa gorda e na água corporal total foi mais marcado nos homens do que nas mulheres, bem como a redução na gordura corporal total (112).

Burman et al. demonstraram, em um trial de 9 meses de seguimento, placebo-controlado, que a terapia com GH induziu, nos homens, uma maior redução na gordura corporal total e na gordura abdominal total do que nas mulheres, estimados por densitometria. A dose de GH foi igual em ambos os sexos (117).

As observações de que os estrógenos orais atenuam os efeitos do GH, em relação ao anabolismo protéico e à utilização de lipídios, podem explicar parcialmente a redução da eficácia do tratamento com GH em mulheres com hipopituitarismo. Nos estudos supracitados, a maioria das pacientes hipopituitárias estava utilizando estrógenos, embora a via de administração dos mesmos não tenha sido especificada. Entretanto, inferiu-se que a maioria desses estudos empregou a rota oral, por ser a via usual de administração. A maioria dos homens hipogonádicos também utilizou andrógenos nesses estudos, e a possibilidade de que os mesmos poderiam amplificar as ações biológicas do GH não foi investigada (112,113,117). Estudos com crianças com baixa estatura demonstraram que os andrógenos estimulam o crescimento de crianças GH-deficientes durante a terapia com GH. Dessa maneira, um efeito regulatório positivo dos andrógenos deveria ser considerado como um mecanismo adicional que explica o dismorfismo sexual na resposta ao GH (39).

C.2.c - Implicações econômicas

A observação de que os estrógenos orais atenuam os efeitos biológicos do GH tem implicações econômicas. O dobro da dose de GH foi necessário nas pacientes em terapia com estrógeno oral para manter os mesmos níveis de IGF-1 que as mulheres em terapia transdérmica. Isso se aproxima a uma dose adicional de 1UI (0,3 mg) de GH ao dia, correspondendo a um custo de US\$ 4.400 ao ano por paciente. A prevalência de hipopituitarismo é estimada em 175-400/1 milhão, sendo que 50.000 a 120.000 adultos têm

deficiência de GH nos Estados Unidos da América. Desses adultos, metade são mulheres, e a maioria é tratada para o hipogonadismo coexistente. A redução de custo para a comunidade seria de US\$ 110-250 milhões, se substituíssemos a rota oral pela transdérmica no tratamento concomitante do hipogonadismo gonadotrófico (118).

A via de administração transdérmica dos estrógenos, além de trazer mais custo-efetividade na ação do GH, também é a via recomendada pela *Growth Hormone Research Society* (119).

IV - Conclusões

O tratamento do hipopituitarismo é complexo, oneroso e exige experiência clínica do médico e grande colaboração dos pacientes. O hipogonadismo feminino, na mulher adulta especialmente, necessita de uma abordagem detalhada no sentido de se obter a melhor e a mais fisiológica combinação de hormônios que possa corrigir adequadamente todas as deficiências presentes, sem acrescentar prejuízos à qualidade e à expectativa de vida dessas pacientes. Nesse sentido, a escolha dos hormônios, sua dose e via de administração são aspectos fundamentais para a obtenção dos efeitos desejados, devendo-se preferir os estrógenos por via cutânea e os progestágenos derivados da 19-nortestosterona.

Referências

1. Lamberts SW, Herder WW, van der Lely AJ. Pituitary insufficiency. *Lancet*. 1998;352:127-34.
2. van Aken MO, Lamberts SW. Diagnosis and treatment of hypopituitarism: an update. *Pituitary*. 2005;8(3-4):183-91.
3. Abboud CF. Laboratory diagnosis of hypopituitarism. *Mayo Clin Proc*. 1986;61:35-48.
4. Bates AS, Van't Hoff W, Jones PJ, Clayton RN. The effect of hypopituitarism on life expectancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(3):1169-72.
5. Ascoli P, Cavagnini F. Hypopituitarism. *Pituitary*. 2006;9(4):335-42.
6. Yen SS, Martin PL, Burnier AM, Czekala NM, Greaney MO Jr., Callantine MR. Circulating estradiol, estrone and gonadotropin levels following the administration of orally active 17beta-estradiol in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1975;40(3):518-21.
7. Stevenson JC, Crook D, Godsland IF. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. *Atherosclerosis*. 1993;98(1):83-90.
8. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnikar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 1991;325(17):1196-204.
9. The lipid research clinics coronary primary prevention trial results. II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA*. 1984;251(3):365-74.
10. Kannel WB. High-density lipoproteins: epidemiologic profile and risks of coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1983;52(4):B9-B12.

11. Powers MS, Schenkel L, Darley PE, Good WR, Balestra JC, Place VA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of transdermal dosage forms of 17-Beta-estradiol: comparison with conventional oral estrogens used for hormone replacement. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;152:1009-106.
12. Lobo RA. Effects of hormonal replacement on lipids and lipoproteins in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73:925-30.
13. Rijpkema AHM, Van der Sanden AA, Ruijs AHC. Effects of postmenopausal oestrogen-progestogen replacement therapy on serum lipids and lipoproteins: a review. *Maturitas.* 1990;12:259-85.
14. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA.* 1998;280(7):605-13.
15. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA.* 2002;288(1):49-57.
16. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J, Grady D, Haskell W, et al. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA.* 2002;288(1):58-66.
17. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 2002;288(3):321-33.

18. Million Women Study Collaborators. Breast cancer hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*. 2003;362(9382):419-27.
19. The Women's Health Initiative Steering Committee. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;291(14):1701-12.
20. Estrogen and progestogen use in peri- and postmenopausal women: September 2003 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2003;10(6):497-506.
21. North American Menopause Society. Recommendations for estrogen and progestogen use in peri- and postmenopausal women: October 2004 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2004;11(6 Pt 1):589-600.
22. North American Menopause Society. Estrogen and progestogen use in peri- and postmenopausal women: March 2007 position statement of the North American Menopause Society. *Menopause*. 2007;14(2):168-82.
23. Bulow B, Hagmar L, Eskilsson J, Erfurth EM. Hypopituitary females have a high incidence of cardiovascular morbidity and an increased prevalence of cardiovascular risk factors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(2):574-84.
24. Sesmilo G, Miller KK, Hayden D, Klibanski A. Inflammatory cardiovascular risk markers in women with hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(12):5774-81.
25. Utiger RD. Estrogen, thyroxine binding in serum, and thyroxine therapy. *N Engl J Med*. 2001;344(23):1784-5.
26. Arafah BM. Increased need for thyroxine in women with hypothyroidism during estrogen therapy. *N Engl J Med*. 2001;344(23):1743-9.

27. van der Vange N, Blankenstein MA, Kloosterboer HJ, Haspels AA, Thijssen JH. Effects of seven low-dose combined oral contraceptives on sex hormone binding globulin, corticosteroid binding globulin, total and free testosterone. *Contraception*. 1990;41(4):345-52.
28. Song S, Chen J, He M, Fotherby K. Effect of some oral contraceptives on serum concentrations of sex hormone binding globulin and ceruloplasmin. *Contraception*. 1989;39(4):385-99.
29. Wiegratz I, Kutschera E, Lee JH, Moore C, Mellinger U, Winkler UH, et al. Effect of four different oral contraceptives on various sex hormones and serum-binding globulins. *Contraception*. 2003;67(1):25-32.
30. White T, Ozel B, Jain JK, Stanczyk FZ. Effects of transdermal and oral contraceptives on estrogen-sensitive hepatic proteins. *Contraception*. 2006;74(4):293-6.
31. Wolthers T, Hoffman DM, Nugent AG, Duncan MW, Umpleby M, Ho KK. Oral estrogen antagonizes the metabolic actions of growth hormone in growth hormone-deficient women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;281(6):E1191-6.
32. Hoffman DM, O'Sullivan AJ, Freund J, Ho KK. Adults with growth hormone deficiency have abnormal body composition but normal energy metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(1):72-7.
33. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *N Engl J Med*. 1989;321(26):1797-803.
34. Bellantoni MF, Vittone J, Campfield AT, Bass KM, Harman SM, Blackman MR. Effects of oral versus transdermal estrogen on the growth hormone/insulin-like growth

- factor I axis in younger and older postmenopausal women: a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(8):2848-53.
35. Janssen YJ, Helmerhorst F, Frolich M, Roelfsema F. A Switch from oral (2 mg/Day) to transdermal (50 {micro}g/Day) 17{beta}-Estradiol therapy increases serum insulin-like growth factor-I levels in recombinant human growth hormone (GH)-substituted women with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(1):464-7.
 36. Weissberger AJ, Ho KK, Lazarus L. Contrasting effects of oral and transdermal routes of estrogen replacement therapy on 24-hour growth hormone (GH) secretion, insulin-like growth factor I, and GH-binding protein in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(2):374-81.
 37. Heald A, Selby PL, White A, Gibson M. Progestins abrogate estrogen-induced changes in the insulin-like growth factor axis. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;183(3):593-600.
 38. Leung KC, Johannsson G, Leong GM, Ho KK. Estrogen regulation of growth hormone action. *Endocr Rev.* 2004;25(5):693-721.
 39. Bourguignon JP. Linear growth as a function of age at onset of puberty and sex steroid dosage: therapeutic implications. *Endocr Rev.* 1988;9:467-88.
 40. Ho KY, Evans WS, Blizzard RM, Veldhuis JD, Merriam GR, Samojlik E, et al. Effects of sex and age on the 24-hour profile of growth hormone secretion in man: importance of endogenous estradiol concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;64(1):51-8.
 41. Baumann G. Growth hormone binding protein. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2001;14(4):355-75.

42. Kelly JJ, Rajkovic IA, O'Sullivan AJ, Sernia C, Ho KK. Effects of different oral oestrogen formulations on insulin-like growth factor-I, growth hormone and growth hormone binding protein in post-menopausal women. *Clin Endocrinol.* 1993;39(5):561-7.
43. O'Sullivan AJ, Hoffman DM, Ho KK. Estrogen, lipid oxidation, and body fat. *N Engl J Med.* 1995;333(10):669-70.
44. Helle SI, Omsjo IH, Hughes SC, Botta L, Huls G, Holly JM, et al. Effects of oral and transdermal oestrogen replacement therapy on plasma levels of insulin-like growth factors and IGF binding proteins 1 and 3: a cross-over study. *Clin Endocrinol.* 1996;45(6):727-32.
45. Cook DM, Ludlam WH, Cook MB. Route of estrogen administration helps to determine Growth Hormone (GH) Replacement dose in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(11):3956-60.
46. Friend KE, Hartman ML, Pezzoli SS, Clasey JL, Thorner MO. Both oral and transdermal estrogen increase growth hormone release in postmenopausal women--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(6):2250-6.
47. Copeland KC. Effects of acute high dose and chronic low dose estrogen on plasma somatomedin-C and growth in patients with Turner's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66(6):1278-82.
48. wson-Hughes B, Stern D, Goldman J, Reichlin S. Regulation of growth hormone and somatomedin-C secretion in postmenopausal women: effect of physiological estrogen replacement. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63(2):424-32.

49. Murphy LJ, Friesen HG. Differential effects of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the ovariectomized hypophysectomized rat. *Endocrinology*. 1988;122(1):325-32.
50. Nugent AG, Leung KC, Sullivan D, Reutens AT, Ho KK. Modulation by progestogens of the effects of oestrogen on hepatic endocrine function in postmenopausal women. *Clin Endocrinol*. 2003;59(6):690-8.
51. Heald A, Selby PL, White A, Gibson M. Progestins abrogate estrogen-induced changes in the insulin-like growth factor axis. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183(3):593-600.
52. Bellantoni MF, Harman SM, Cho DE, Blackman MR. Effects of progestin-opposed transdermal estrogen administration on growth hormone and insulin-like growth factor-I in postmenopausal women of different ages. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991;72(1):172-8.
53. Karjalainen A, Paasilta M, Heikkinen J, Backstrom AC, Savolainen M, Kesaniemi YA. Effects of peroral and transdermal oestrogen replacement therapy on glucose and insulin metabolism. *Clin Endocrinol*. 2001;54(2):165-73.
54. Goebelsmann U, Mashchak CA, Mishell DR. Comparison of hepatic impact of oral and vaginal administration of ethinyl estradiol. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;151:868-77.
55. Mashchak CA, Lobo RA, Dozono-Takano R, Eggena P, Nakamura RM, Brenner PF, et al. Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;144(5):511-8.
56. Baxter RC. Circulation binding proteins for the insulin-like growth factors. *Trends Endocrinol Metab*. 1993;4:91-6.

57. Chin E, Zhou J, Dai J, Baxter RC, Bondy CA. Cellular localization and regulation of gene expression for components of the insulin-like growth factor ternary binding protein complex. *Endocrinology*. 1994;134(6):2498-504.
58. Kam GY, Leung KC, Baxter RC, Ho KK. Estrogens exert route- and dose-dependent effects on insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 and the acid-labile subunit of the IGF ternary complex. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(5):1918-22.
59. Cano A, Castelo-Branco C, Tarín JJ. Effect of menopause and different combined estradiol-progestin regimens on basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated serum growth hormone, insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-1, and IGFBP-3 levels. *Fertil Steril*. 1999;71(2):261-7.
60. Garnero P, Tsouderos Y, Marton I, Pelissier C, Varin C, Delmas PD. Effects of intranasal 17 β -estradiol on bone turnover and serum insulin-like growth factor I in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(7):2390-7.
61. Lewitt MS, Denyer GS, Cooney GJ, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-1 modulates blood glucose levels. *Endocrinology*. 1991;129(4):2254-6.
62. Paasilta M, Karjalainen A, Kervinen K, Savolainen MJ, Heikkinen J, Backstrom AC, et al. Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and IGF-1 during oral and transdermal estrogen replacement therapy: relation to lipoprotein(a) levels. *Atherosclerosis*. 2000;149(1):157-62.
63. Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev*. 1997;18(6):801-31.
64. Tapanainen P, Risteli L, Knip M, Kaar ML, Risteli J. Serum aminoterminal propeptide of type III procollagen: a potential predictor of the response to growth hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;67(6):1244-9.

65. Hassager C, Jensen LT, Podenphant J, Thomsen K, Christiansen C. The carboxy-terminal pyridinoline cross-linked telopeptide of type I collagen in serum as a marker of bone resorption: The effect of nandrolone decanoate and hormone replacement therapy. *Calcif Tissue Int.* 1994;54(1):30-3.
66. Rechler MM, Nissley SP, Podskalny JM, Moses AC, Fryklund L. Identification of a receptor for somatomedin-like polypeptides in human fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977;44(5):820-31.
67. Bennett A, Chen T, Feldman D, Hintz RL, Rosenfeld RG. Characterization of insulin-like growth factor I receptors on cultured rat bone cells: regulation of receptor concentration by glucocorticoids. *Endocrinology.* 1984;115(4):1577-83.
68. Hock JM, Centrella M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication. *Endocrinology.* 1988;122(1):254-60.
69. Ho K, Weissberger AJ. Impact of short-term estrogen administration on growth hormone secretion and action: distinct route-dependent effects on connective and bone tissue metabolism. *J Bone Miner Res.* 1992;7:821-7.
70. Yakar S, Liu JL, Stannard B, Butler A, Accili D, Sauer B, et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96(13):7324-9.
71. Wynn V, Adams PW, Godsland I, Melrose J, Niththyananthan R, Oakley NW, et al. Comparison of effects of different combined oral-contraceptive formulations on carbohydrate and lipid metabolism. *Lancet.* 1979;1(8125):1045-9.
72. Kasdorf G, Kalkhoff RK. Prospective studies of insulin sensitivity in normal women receiving oral contraceptive agents. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66(4):846-52.

73. Cagnacci A, Soldani R, Carriero PL, Paoletti AM, Fioretti P, Melis GB. Effects of low doses of transdermal 17 beta-estradiol on carbohydrate metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(6):1396-400.
74. De Cleyn K, Buytaert P, Coppens M. Carbohydrate metabolism during hormonal substitution therapy. *Maturitas.* 1989;11:235-42.
75. Ajabor LN, Tsai CC, Vela P, Yen SS. Effect of exogenous estrogen on carbohydrate metabolism in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol.* 1972;113(3):383-7.
76. Nabulsi AA, Folsom AR, White A, Patsch W, Heiss G, Wu KK, et al. Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *N Engl J Med.* 1993;328(15):1069-75.
77. O'Sullivan AJ, Ho KK. A comparison of the effects of oral and transdermal estrogen replacement on insulin sensitivity in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(6):1783-8.
78. Perseghin G, Scifo P, Pagliato E, Battezzati A, Benedini S, Soldini L, et al. Gender factors affect fatty acids-induced insulin resistance in nonobese humans: effects of oral steroidal contraception. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(7):3188-96.
79. Godsland IF, Walton C, Felton C, Proudler A, Patel A, Wynn V. Insulin resistance, secretion, and metabolism in users of oral contraceptives. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(1):64-70.
80. Balogh A, Kauf E, Vollanath R, Graser G, Klinger G, Oettel M. Effects of two oral contraceptives on plasma levels of insulin-like-growth factor I (IGF-1) and growth hormone. *Contraception.* 2000;259-69.

81. Jorgensen JOL, Theusen L, Ingemann-Hansen T, Pedersen SA, Jorgensen J, Christiansen JS. Beneficial effects of growth hormone treatment on GH-deficient adults. *Lancet*. 1989;1:1221-5.
82. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *N Engl J Med*. 1989;321(26):1797-803.
83. Moller N, Jorgensen JO, Alberti KG, Flyvbjerg A, Schmitz O. Short-term effects of growth hormone on fuel oxidation and regional substrate metabolism in normal man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;70(4):1179-86.
84. O'Sullivan AJ, Crampton LJ, Freund J, Ho KK. The route of estrogen replacement therapy confers divergent effects on substrate oxidation and body composition in postmenopausal women. *J Clin Invest*. 1998;102(5):1035-40.
85. Ockner RK, Lysenko N, Manning JA, Monroe SE, Burnett DA. Sex steroid modulation of fatty acid utilization and fatty acid binding protein concentration in rat liver. *J Clin Invest*. 1980;65:1013-23.
86. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnkar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 1991;325(17):1196-204.
87. Haarbo J, Marslew U, Gotfredsen A, Christiansen C. Postmenopausal hormone replacement therapy prevents central distribution of body fat after menopause. *Metabolism*. 1991;40:1323-6.
88. Troisi RJ, Wolf AM, Mason JE, Klinger KM, Colditz GA. Relation of body fat distribution to reproductive factors in pre- and postmenopausal women. *Obes Res*. 1995;3:143-51.

89. Kritz-Silverstein D, Barret-Connor E. Long-term postmenopausal hormone use, obesity and fat distribution in older women. *JAMA*. 1996; 275:46-9.
90. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimes on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial. *JAMA*. 1995;273(3):199-208.
91. Wing RR, Mathews KA, Kuller LH, Meilahn EN, Plantinga PL. Weight gain at the time of menopause. *Arch Intern Med*. 1991;151:97-102.
92. Aloia JF, Vaswani A, Russo L, Sheehan M, Flaster E. The influence of menopause and hormonal replacement therapy on body cell mass and body fat mass. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;172:896-900.
93. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, Piaggese L, De Simone L, Orlandi R, et al. Body weight, body fat distribution, and hormonal replacement therapy in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(2):414-7.
94. Hew FL, Alford FP, Christopher M, Rantza C, Koschmann M, O'Neal D, et al. Effects of growth hormone deficiency and therapy in adults on skeletal muscle glucose metabolism, lipid profiles and regional body composition. *Endocrinol Metab*. 1996;3(Suppl 1):55-60.
95. Seed M. Sex hormones, lipoproteins and cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 1990;90:1-7.
96. Rudling M, Olivecrona H, Eggertsen G, Angelin B. Regulation of rat hepatic low density lipoprotein receptors. In vivo stimulation by growth hormone is not mediated by insulin-like growth factor-I. *J Clin Invest*. 1996;97:292-9.

97. Rudling M, Norstedt G, Olivecrona H, Reihner E, Gustafsson JA, Angelin B. Importance of growth hormone for the induction of hepatic low density lipoprotein receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:6983-7.
98. Elam MB, Wilcox HG, Solomon SS, Heimberg M. In vivo growth hormone treatment stimulates secretion of very low density lipoprotein by the isolated perfused rat liver. *Endocrinology*. 1992;131(6):2717-22.
99. Eden S, Wiklund O, Oscarsson J, Rosén T, Bengtsson BA. Growth hormone treatment of growth hormone-deficient adults results in a marked increase in Lp(a) and HDL cholesterol concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1993;13:296-301.
100. Godsland I. Effects of postmenopausal hormone replacement on lipid, lipoprotein and apolipoprotein (a) concentrations: analysis of studies published from 1974-2000. *Fertil Steril*. 2001;75:898-915.
101. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, Aspirin, and the Risk of Cardiovascular Disease in Apparently Healthy Men. *N Engl J Med*. 1997;336(14):973-9.
102. 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(12):836-43.
103. Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev*. 2002;23(1):90-119.
104. Cushman M, Meilahn EN, Psaty BM, Kuller LH, Dobs AS, Tracy RP. Hormone replacement therapy, inflammation and hemostasis in elderly women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:893-9.

105. Sesmilo G, Biller BM, Llevadot J, Hayden D, Hanson G, Rifai N, et al. Effects of growth hormone administration on inflammatory and other cardiovascular risk markers in men with growth hormone deficiency. A randomized, controlled clinical trial. *Arch Intern Med.* 2000;133:111-22.
106. Serri O, St-Jacques P, Sartippour M, Renier G. Alterations of monocyte function in patients with growth hormone (GH) deficiency: effect of substitutive GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(1):58-63.
107. Sesmilo G, Fairfield WP, Katznelson L, Pulaski K, Freda PU, Bonert V, et al. Cardiovascular risk factors in acromegaly before and after normalization of serum IGF-I levels with the GH antagonist pegvisomant. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(4):1692-9.
108. Svensson J, Johannsson G, Bengtsson BA. Insulin-like growth factor-I in growth hormone-deficient adults: relationship to population-based normal values, body composition and insulin tolerance test. *Clin Endocrinol.* 1997;46(5):579-86.
109. Mukherjee A, Monson JP, Jonsson PJ, Trainer PJ, Shalet SM. Seeking the optimal target range for insulin-like growth factor I during the treatment of adult growth hormone disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(12):5865-70.
110. Hilding A, Hall K, Wivall-Helleryd IL, Saaf M, Melin AL, Thoren M. Serum levels of insulin-like growth factor I in 152 patients with growth hormone deficiency, aged 19-82 years, in relation to those in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(6):2013-9.
111. Gibney J, Johannsson G, Leung KC, Ho KK. Comparison of the metabolic effects of raloxifene and oral estrogen in postmenopausal and growth hormone-deficient women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(7):3897-903.

112. Johannsson G, Bjarnason R, Bramnert M, Carlsson LM, Degerblad M, Manhem P, et al. The individual responsiveness to growth hormone (GH) treatment in GH-deficient adults is dependent on the level of GH-binding protein, body mass index, age, and gender. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(4):1575-81.
113. Gotherstrom G, Svensson J, Koranyi J, Alpsten M, Bosaeus I, Bengtsson B, et al. A prospective study of 5 years of GH replacement therapy in GH-deficient adults: sustained effects on body composition, bone mass, and metabolic indices. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(10):4657-65.
114. Johannsson G, Rosen T, Bengtsson BA. Individualized dose titration of growth hormone (GH) during GH replacement in hypopituitary adults. *Clin Endocrinol.* 1997;47(05):571-81.
115. Bengtsson BA, Abs R, Benmarker H, Monson JP, Feldt-Rasmussen U, Hernberg-Stahl E, et al. The effects of treatment and the individual responsiveness to growth hormone (GH) replacement therapy in 665 GH-deficient adults. KIMS Study Group and the KIMS International Board. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(11):3929-35.
116. Drake WM, Coyte D, Camacho-Hubner C, Jivanji NM, Kaltsas G, Wood DF, et al. Optimizing growth hormone replacement therapy by dose titration in hypopituitary adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(11):3913-9.
117. Burman P, Johansson AG, Siegbahn A, Vessby B, Karlsson FA. Growth hormone (GH)-deficient men are more responsive to GH replacement therapy than women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(2):550-5.
118. Rosen T, Bengtsson BA. Epidemiology of adult onset hypopituitarism in Gotenburg, Sweden during 1956-1987. *Proc International Symposium on Growth Hormone and Growth Factors*, 60; 1994.

119. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with growth hormone deficiency: summary statement of the growth hormone research society workshop on adult growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(2):379-81.

Tabela 1 - Derivados estrogênicos disponíveis no mercado brasileiro

Derivado	Dose
Via oral	
Estrogênios conjugados	0,3-0,45-0,625-1,25 mg/dia
17 β -estradiol micronizado	1-2 mg/dia
Valerato de estradiol	1-2 mg/dia
Hemisuccinato de estradiol	1,5 mg/dia
Estriol	2-6 mg/dia
Via transdérmica	
Estradiol transdérmico	25-50-100 μ g/dia
Estradiol gel	0-5-1,0-1,5-3,0 mg/dia
Via nasal	
Estradiol intranasal	300 μ g/dia
Via subcutânea	
Estradiol implante	25 mg a cada 6 meses
Via vaginal	
Estrogênios conjugados	0,625 mg/dia
Estriol	1-2 mg/dia
Promestrieno	10 mg/dia

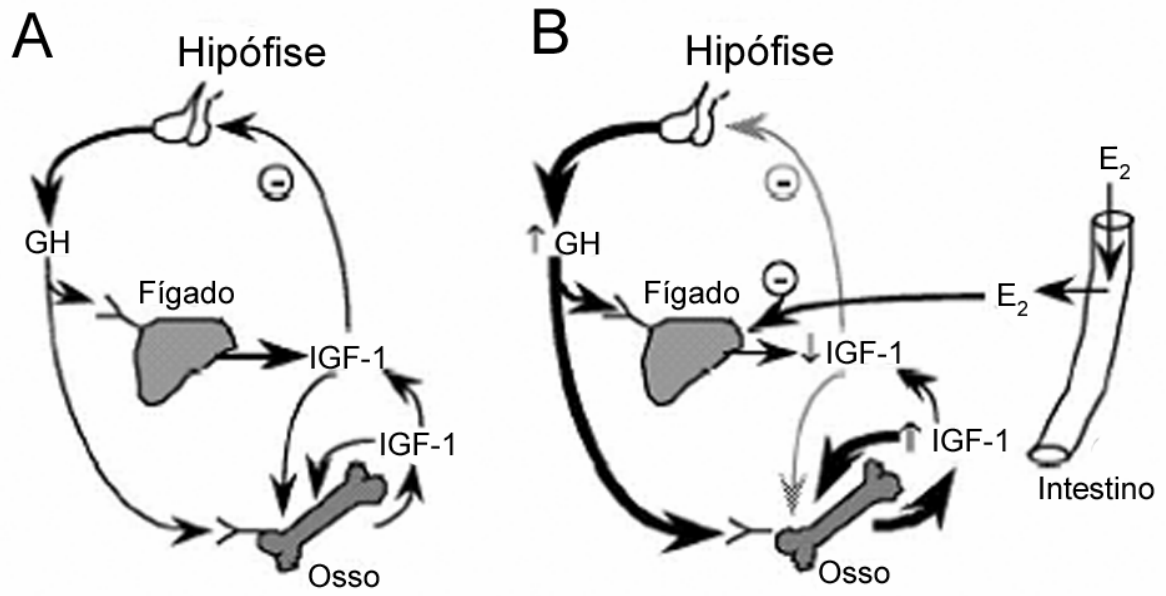
Tabela 2 - Derivados de progestágenos disponíveis no mercado brasileiro

Derivado	Dose
Via oral	
Acetato de medroxiprogesterona	1,5-2,5-5,0-10 mg/dia
Acetato de ciproterona	1-2 mg/dia
Noretisterona	0,35 mg/dia
Acetato de noretisterona	0,35-0,5-0,7-1,0 mg/dia
Acetato de nomegestrol	2,5-5,0 mg/dia
Didrogestrona	5,0-10 mg/dia
Dienogest	2,0 mg/dia
Norgestimato	9 µg 3/3 dias
Progesterona micronizada	100-200-300 mg/dia
Trimegestona	0,5 mg/dia
Via transdérmica	
Acetato de noretisterona	140-170-250 µg/dia
Via vaginal	
Progesterona micronizada	100-200-300 mg

Legenda da figura:

Figura 1 - Ação de GH e IGF-1 e efeito de estrógeno oral. A) Conceitos atuais sobre a ação do GH mediada por IGF-1. Tecidos periféricos, como ossos, respondem aos efeitos combinados do IGF-1 circulante derivado do fígado (endócrino) e do IGF-1 gerado localmente (parácrino). Ambas as fontes contribuem para a inibição do *feedback* à liberação de GH da hipófise. B) Impacto da administração de estrógeno oral, que inibe a produção hepática de IGF-1 para reduzir o IGF-1 circulante. A perda de inibição do *feedback* resulta em uma estimulação da secreção de GH, o que poderia estimular tecidos periféricos, tais como ossos e músculos, e melhorar a ação parácrina do IGF-1, levando a níveis maiores de procolágeno circulante ou a um aumento de massa magra. Como isso não ocorre, sugere-se que o IGF-1 endócrino seja um regulador mais importante da estimulação dos tecidos periféricos do que o IGF-1 local. E₂ = estradiol. (Adaptado de Leung et al., *Endocrine Reviews*, 2004).

Figura 1



ARTIGO ORIGINAL

Efeitos do uso de estrógenos orais e transdérmicos sobre IGF-1, IGFBP-3, IGFBP-1, lipídios e metabolismo da glicose em pacientes com hipopituitarismo durante reposição com hormônio de crescimento: um estudo randomizado

Effects of oral and transdermal estrogen on IGF-1, IGFBP-3, IGFBP-1 and metabolism of lipids and glucose in patients with hypopituitarism during growth hormone treatment: a randomized study

Título resumido: Reposição de estrógenos e efeitos metabólicos do GH

Isotton AL, Wender MCO, Casagrande A, Rollin G, Oliveira C, Czepielewski MA.

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.

Correspondência:

Mauro Antônio Czepielewski

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar

CEP 90035-003 - Porto Alegre, RS

Tel.: (51) 3316-5600

E-mail: maurocze@terra.com.br

Resumo

Estudos prévios com pacientes pós-menopáusicas demonstraram diferentes efeitos das rotas de administração estrogênica sobre as concentrações de hormônio de crescimento (GH) e de fator de crescimento insulina-símile número 1 (IGF-1). A via de administração estrogênica oral reduz os níveis séricos de IGF-1 e aumenta as concentrações de proteína ligadora número 1 do IGF-1 (IGFBP-1). Esses efeitos, entretanto, não ocorrem com a rota estrogênica transdérmica. O objetivo primário desse ensaio é o de avaliar os efeitos da administração de estradiol oral e de 17 β estradiol transdérmico sobre as concentrações séricas de IGF-1 e de suas proteínas ligadoras em mulheres com hipopituitarismo. Foram estudadas 11 pacientes com hipopituitarismo, as quais foram randomizadas para receber 2 mg de estradiol oral (n = 6) ou 50 μ g de 17 β estradiol transdérmico (n = 5) por 3 meses. No grupo que utilizou estrógenos orais, observamos redução significativa dos valores de IGF-1 em comparação com os valores basais (em média $42,7 \pm 41,4\%$, p = 0,046), não havendo diferença no grupo que utilizou estrógenos transdérmicos. Os valores de IGFBP-1 aumentaram significativamente em relação aos valores basais (em média $170,2 \pm 230,9\%$, p = 0,028) no grupo oral, porém não no grupo transdérmico. Nossos dados indicam que a via de administração estrogênica pode influenciar os níveis de IGF-1 e, também, os valores de IGFBP-1. A relevância clínica desses achados em pacientes com hipopituitarismo influencia na resposta ao tratamento com GH, uma vez que essas pacientes que utilizam estrógenos orais necessitam um aumento da dose de GH. Entretanto, a significância clínica da diminuição de IGF-1 pelos estrógenos orais necessita ser determinada em relação ao risco de desenvolvimento de doença cardiovascular nessas pacientes.

Palavras-chave: estrógenos, IGF-1, IGFBP-1, IGFBP-3, GH, hipopituitarismo.

Abstract

Previous studies with postmenopausal patients have demonstrated that administering estrogen by different routes has different effects on GH and IGF-1 concentrations. Oral administration of estrogen reduces serum IGF-1 levels and increases IGFBP-1 concentrations. These effects are not, however, present when the transdermal estrogen route is employed. The primary objective of this study was to evaluate the effects of oral administration of estradiol and of 17β transdermal estradiol on serum concentrations of IGF-1 and its binding proteins in women with hypopituitarism. The sample consisted of 11 patients with hypopituitarism, who were allocated at random to receive either 2 mg of oral estradiol ($n = 6$) or 50 μg of 17β transdermal estradiol ($n = 5$) for 3 months. In the group given oral estrogens, we observed a significant reduction in IGF-1 levels compared with baseline values (a mean drop of $42.7\% \pm 41.4$, $p = 0.046$), whereas there was no difference in the group using transdermal estrogens. There was a significant increase in IGFBP-1 levels over baseline values (mean increase of $170.2\% \pm 230.9$, $p = 0.028$) in the oral group, but not in the transdermal group. Our data indicate that the route of estrogen administration can influence IGF-1 levels and also IGFBP-1 levels. The clinical relevance of these findings in patients with hypopituitarism has an influence on their response to treatment with GH, since those patients who are given oral estrogen require an increase in their GH dosage. Nevertheless, there is a need to ascertain the clinical significance of oral estrogen reducing IGF-1 with reference to these patients' risk of developing cardiovascular disease.

Keywords: estrogens, IGF-1, IGFBP-1, IGFBP-3, GH, hypopituitarism.

Introdução

Existem numerosas evidências de que o uso de estrógenos nas mulheres exerce influência sobre o eixo GH/IGF-1 (1). Quando particularmente administrados pela via oral, reduzem as concentrações séricas de IGF-1 total, observados tanto em pequenos ensaios intervencionistas (2-10) quanto em grandes estudos transversais (11-15). Esses achados foram observados tanto em mulheres pós-menopáusicas quanto naquelas com hipopituitarismo.

Presume-se que o estrógeno oral iniba a secreção/produção de IGF-1 através de um efeito de primeira passagem hepática, causando um aumento da secreção de GH através da inibição do *feedback* negativo de IGF-1 (1,6). Em pacientes GH-deficientes, essas alterações prejudicam a ação do GH e, conseqüentemente, suprimem a oxidação lipídica e causam mudanças de composição corporal (16).

Estudos com a rota estrogênica transdérmica demonstraram ausência de efeito sobre a secreção de GH e ausência de efeito ou aumento sobre as concentrações séricas de IGF-1, provavelmente em decorrência de este não sofrer metabolização hepática e acessar diretamente a circulação sistêmica (2,17-20). Entretanto, um estudo com mulheres pós-menopáusicas demonstrou redução de 26% nas concentrações séricas de IGF-1, semelhante ao que ocorre com as preparações orais, sugerindo que os estrógenos circulantes durante o ciclo menstrual normal regulem a secreção de GH e que esse último apresenta concentrações mais elevadas na fase folicular tardia, quando as concentrações de estradiol estão mais elevadas (21).

Cerca de 75% do IGF-1 circula no plasma através de um complexo ternário com a proteína ligadora número 3 do IGF-1 (IGFBP-3) e com a subunidade ácido-lábil (ALS). Estudos com estrógenos orais demonstraram resultados inconsistentes em relação às

concentrações de IGFBP-3, com redução dos seus níveis séricos (5,7,13) e aumento (22) ou ausência de efeito (2,4,6,12,14,15).

A IGFBP-1 é uma proteína ligadora de IGF, modulada pela insulina, que regula a taxa de IGF-1 livre. Seus níveis séricos estão inversamente relacionados ao desenvolvimento de diabetes melito tipo 2, particularmente na presença de concentrações reduzidas de IGF-1 (23). Helle et al. demonstraram um aumento de 46% nos níveis séricos de IGFBP-1 após o uso de estrógenos orais (6), sendo esses achados confirmados também posteriormente por outros autores (4,5). Em um recente estudo, observou-se que a relação IGFBP-1/IGF-1 aumentou em magnitude similar ao aumento da IGFBP-1. A insulina regula negativamente a transcrição do RNA mensageiro do IGFBP-1 nos hepatócitos. Entretanto, com a ausência de efeito dos estrógenos orais sobre os níveis séricos de insulina demonstrados nesse estudo, foi sugerido que o aumento dos níveis séricos de IGFBP-1, induzido pelos estrógenos orais, seja um fator independente da insulina (24). Por outro lado, existem evidências de que o GH regula negativamente a transcrição de IGFBP-1 nos hepatócitos *in vitro*, que a deficiência de GH está associada com níveis elevados de IGFBP-1 e que esses eventos ocorrem na ausência da ação da insulina (25).

O objetivo primário desse estudo é o de investigar as inter-relações entre as vias de administração estrogênicas e as concentrações de IGF-1 e suas proteínas ligadoras e, também, um conjunto de variáveis clínicas, hormonais e bioquímicas do metabolismo glicídico e lipídico em pacientes com hipopituitarismo durante o tratamento de reposição com GH. Nessas pacientes, não poderá ocorrer modulação da secreção de GH induzida pelas variações estrogênicas, uma vez que as mesmas são portadoras de deficiência de GH. Assim, as possíveis alterações que possam ocorrer serão reflexos de outros efeitos metabólicos, independentes da secreção de GH.

Pacientes e métodos

Foram estudadas 11 pacientes do sexo feminino com hipopituitarismo de causa orgânica e secundária e idade entre 18 e 50 anos (tabela 1) selecionadas de um grupo de 36 pacientes acompanhadas no Ambulatório de Neuroendocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA, e todas as pacientes que aceitaram participar do mesmo o fizeram através de consentimento livre e esclarecido. O hipopituitarismo foi diagnosticado através de dosagens hormonais basais de T4, hormônio tireo-estimulante (TSH), estradiol, hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH), cortisol, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e IGF-1. A deficiência de GH foi diagnosticada através do teste de hipoglicemia insulínica (n = 5) ou pelo teste do glucagon (n = 6), considerando-se como normal o pico de GH maior que 3 ng/ml (tabela 2). Todas as pacientes receberam tratamento regular para a correção de outras deficiências hormonais. No que se refere ao hormônio de crescimento, ao iniciarem o estudo, as pacientes encontravam-se há pelo menos 2 meses em uso de 0,5 UI/dia de Norditropin® (Novo Nordisk, Brasil) e apresentavam níveis de IGF-1 normais para a faixa etária. A maioria das pacientes não utilizava esteróides gonadais (6/11) e, naquelas que já o faziam (5/11), os mesmos foram suspensos 3 meses antes do início do estudo.

Foram excluídas pacientes diabéticas, obesas, hepatopatas, nefropatas e pacientes com idade inferior a 18 anos ou superior a 50 anos. As endocrinopatias anteriores, e cujo tratamento resultou no hipopituitarismo, não se apresentavam mais em atividade no momento do estudo, salientando-se que seis pacientes com doença de Cushing no passado necessitavam de reposição glicocorticóide, e as pacientes com craniofaringioma e disgerminoma não apresentavam qualquer evidência de atividade tumoral há vários anos.

As pacientes selecionadas foram randomizadas para receber 2 mg de estradiol oral (Estrofem®, Novo Nordisk) ou 50 µg de estradiol transdérmico por 3 meses (System®, Janssen-Cilag) e, posteriormente, foi acrescentado 1 mg de noretisterona oral (Micronor®, Janssen-Cilag) por mais 3 meses para proteção endometrial.

Ensaio e métodos empregados

O IGF-1 foi determinado através de ensaio imunoradiométrico (IRMA), DSL-5600 Active (Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, Texas), com coeficientes de variação intra e interensaio de 3,9 e 4,2%, respectivamente, no Laboratório de Radioimunoensaio do HCPA.

A dosagem de IGFBP-3 foi determinada através de ensaio IRMA, DSL 6600 Active (Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, Texas), com coeficientes de variação intra e interensaio de 3,9 e 0,6%, respectivamente, no Instituto Fleury em São Paulo.

A dosagem de IGFBP-1 foi determinada através de ensaio IRMA, DSL 7800 Active (Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, Texas), no Nichols Institute, Estados Unidos, com coeficientes de variação intra e interensaio de 2,7 e 3,6%.

As dosagens hormonais restantes foram realizadas no Laboratório de Radioimunoensaio do HCPA, sendo que o estradiol e o peptídeo C foram medidos através do método de quimioluminescência, e a insulina foi dosada pelo método de radioimunoensaio.

A PCR-US foi dosada por nefelometria, através do reagente CardioPhase hsCRP (Dade Behring, Inc., USA), com coeficientes de variação intra e interensaio de 3,1% e 2,5%, respectivamente.

As dosagens bioquímicas foram realizadas através dos métodos de rotina do Laboratório Geral do HCPA. Para detecção da resistência insulínica, utilizou-se o índice de

homeostasis model assessment - insulin resistance (HOMA-IR), o qual foi calculado através da fórmula $HOMA-IR = [(glicemia \text{ de jejum em mg/dL} \times 0,05551) \times \text{insulina de jejum em } \mu\text{U/mL}] / 22,5$.

No que se refere às variáveis clínicas, utilizou-se o peso corporal, o índice de massa corporal ($IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$), a pressão arterial e a relação cintura/quadril, dividindo-se o maior diâmetro de ambas as circunferências. Para caracterizar os efeitos estrogênicos, avaliamos também a espessura endometrial, através da ecografia transvaginal, utilizando o equipamento LOGIC 200 PRO General Electric (GE), com transdutor endocavitário na frequência de 7,5 MHz.

Análise estatística

As variáveis quantitativas foram descritas através de média e desvio padrão, se simétricas, ou mediana e amplitude de variação (máximo/mínimo), em caso de assimetria. As variáveis categóricas foram descritas através de frequências absolutas e relativas.

Para comparar os grupos (oral e transdérmico) em relação às variáveis quantitativas de distribuição normal, o teste *t* de Student foi aplicado. Em caso de assimetria, o teste de Mann-Whitney foi utilizado.

O teste *t* para amostras pareadas ou o teste de Wilcoxon foram aplicados de acordo com a distribuição da variável para comparar as avaliações basal e após 3 meses de uso de estrógeno em cada via de administração.

O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para avaliar as associações entre as variações do terceiro mês para o basal das variáveis em estudo.

O nível de significância adotado foi de 5%, sendo considerados estatisticamente significativos valores de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 12.0.

Resultados

A amostra foi constituída de 11 pacientes com idade média de 36,1 ($\pm 10,2$) anos e com predominância da cor branca em 90,9% dos casos (tabela 1). Quanto às características clínicas da amostra, todas as mulheres apresentavam deficiências somato e gonadotróficas, e 54,5% delas apresentaram doença de Cushing como endocrinopatia prévia, cujo tratamento resultou em hipopituitarismo (tabela 2).

As pacientes dos grupos oral e transdérmico, no início do estudo, eram semelhantes em relação aos níveis de IGF-1, IGFBP-1, IGFBP-3 e demais variáveis em estudo (tabela 3).

Durante os 3 meses de tratamento, os níveis séricos de estradiol aumentaram em média 1.072% ($\pm 1.151,4$) no grupo oral, de 10,1 pg/mL (5-54,7) para 133,9 pg/mL (7,4-197,9), $p = 0,046$ (mediana e mínimo/máximo). No grupo transdérmico, os níveis de estradiol aumentaram em média 180,5% ($\pm 105,7$), ou seja, de 12,7 pg/mL (7,4-33,4) para 36,1 pg/mL (17,4-84,4), com $p = 0,043$ (tabela 4).

A espessura endometrial, analisada pela ecografia pélvica transvaginal, aumentou 297,9% ($\pm 219,1$) no grupo oral ($p = 0,027$) e 110% ($\pm 43,5$) no grupo transdérmico ($p = 0,042$).

A mediana dos níveis de IGF-1 caiu significativamente (em média 42,7% $\pm 41,4$) em relação aos valores basais durante o tratamento com estrógenos orais, de 195,6 ng/mL (40,7-461,5) para 91,3 ng/mL (34,1-203,9), com $p = 0,046$. No grupo transdérmico, a mediana de IGF-1 no início do tratamento era de 166,5 ng/mL (148,8-340,4) e, após 3 meses de

tratamento, foi para 122,3 ng/mL (101,9-339,2), com $p = 0,500$ (figura 1). Também não houve diferença significativa dentro de cada grupo com relação às medianas de IGFBP-3 (figura 2).

Por outro lado, observamos aumento significativo dos valores de IGFBP-1 no grupo oral, em média de 170,2% ($\pm 230,9$), variando de 14,9 ng/mL (5,0-56,2) no basal para 40,6 ng/mL (7,9-62,2) no final do tratamento, com $p = 0,028$. No grupo transdérmico, houve redução não-significativa de IGFBP-1, com os valores no momento basal de 29,9 ng/mL (5,0-49,7) e 12,2 ng/mL (5,0-41,0) após 3 meses de tratamento, com $p = 0,144$ (figura 3).

Em relação ao perfil lipídico, houve um aumento significativo dos níveis médios de HDL colesterol (27,8% $\pm 9,3$) no grupo oral, de 54,0 $\pm 19,3$ mg/dL no basal para 68,7 $\pm 24,0$ mg/dL após 3 meses de tratamento ($p = 0,003$).

As medidas antropométricas não foram diferentes antes e após cada tratamento, assim como os níveis pressóricos, frequência cardíaca, glicose, insulina, peptídeo C e o índice de HOMA (tabela 5).

A proteína C reativa ultra-sensível (PCR-US) reduziu significativamente (52,5% $\pm 21,0$) no grupo transdérmico, de 3,2 mg/L (1,3-7,3) para 1,1 mg/dL (0,6-5,5), com $p = 0,043$. No grupo oral, não houve diferença significativa da PCR-US, antes e após o tratamento com estradiol.

A variação de IGFBP-1 correlacionou-se negativamente com a variação da insulina (tabela 6 e figura 4) no grupo oral ($r = - 0,815$, $p < 0,05$). Observamos correlação forte e significativa entre a variação de triglicerídeos e a variação de IGFBP-1 ($r_s = - 0,829$, $p = 0,042$) no grupo oral.

Discussão

No presente estudo, observamos que, após 3 meses de uso de 2 mg de estradiol oral, os valores de IGF-1 reduziram significativamente, o que não ocorreu após o uso de 50 µg de estradiol transdérmico. Em relação aos valores de IGFBP-3, não foram verificadas diferenças significativas nos dois grupos de tratamento.

Estudos prévios com mulheres pós-menopáusicas demonstraram diferentes efeitos de ambas as rotas de administração estrogênica sobre os níveis de IGF-1 (3,6,7,19,26,27). Entretanto, o período de tratamento (2-12 meses), a dose do estradiol transdérmico (20-100 µg/dia) e os tipos e doses do estrógeno oral utilizados (etinilestradiol, 17 β-estradiol, valerato de estradiol, estrogênios equinos conjugados) foram diferentes entre os estudos. Além disso, a maioria dos estudos não é placebo-controlada, constituindo-se em estudos longitudinais e/ou transversais em pequeno grupo de pacientes.

Estudos anteriores demonstraram 15 a 40% de redução nos níveis de IGF-1 após o uso de estrógenos orais (3,6,7,19,26,27). No presente ensaio, observamos 42% de redução dos níveis de IGF-1 após o uso de 2 mg de estradiol oral. Helle et al. utilizaram o mesmo tipo e a mesma dose de estrógeno oral e encontraram 16% de redução dos valores de IGF-1 em mulheres pós-menopáusicas (6). Assim, o acentuado decréscimo de IGF-1 observado no presente ensaio parece decorrer de o mesmo ter avaliado pacientes com deficiência de GH, nas quais não pode ocorrer elevação compensatória da secreção de GH.

Os diferentes efeitos entre as rotas de administração estrogênicas podem ser explicados por diferentes efeitos sobre a síntese hepática de IGF-1, uma vez que tem sido sugerido que os estrógenos orais diminuem os níveis de IGF-1 através da supressão do RNAm do IGF-1 no fígado (28). Os estrógenos transdérmicos não sofrem o efeito de primeira passagem hepática e, portanto, não provocam as alterações metabólicas hepáticas que

resultam em redução de IGF-1 (6,7,19,27). Outro estudo demonstrou também que a administração de 17 β -estradiol intranasal não modifica os níveis séricos de IGF-1 (29).

Os estrógenos orais provocaram elevação do *high density lipoprotein cholesterol* (HDL-colesterol), sem alterar o restante do perfil lipídico. Esses resultados estão de acordo com os encontrados em estudo prévio com adultos GH-deficientes, em terapia com GH, onde esse último demonstrou melhorar o *turnover* do *very low density lipoprotein cholesterol* (VLDL) e do *low density lipoprotein cholesterol* (LDL-colesterol) e, conseqüentemente, aumentar as concentrações de HDL (30).

Apesar de a terapia com GH poder implicar em piora do metabolismo dos carboidratos e causar resistência insulínica (31), nossos dados não demonstraram alterações nos níveis de glicemia, insulina, peptídeo C e índice HOMA com o uso de estrógenos orais.

O uso de estrógenos orais provocou um aumento significativo nos níveis de IGFBP-1, o que não ocorreu com o uso de estrógenos transdérmicos. Esse aumento correlacionou-se negativamente com os níveis de insulina e triglicerídeos. A IGFBP-1 é um importante inibidor da bioatividade do IGF-1 e um regulador inibitório da secreção de insulina (32,33), sendo considerada a maior determinante dos níveis séricos de IGF-1 livre (34). A administração de estrógenos orais em ratos demonstrou aumentar a expressão do RNAm da IGFBP-1 hepática (35). Um outro estudo com mulheres pós-menopáusicas demonstrou aumento significativo de IGFBP-1 após 3 meses de uso de 2 mg de valerato de estradiol oral (26). Um aumento de 46% nos níveis séricos de IGFBP-1, após o uso de estrógeno oral, também foi verificado por Helle et al. em oito mulheres que tinham níveis séricos de progesterona indetectáveis, sugerindo que esse aumento se devesse ao uso da terapia oral (6). Recentemente, foi demonstrado aumento de IGFBP-1 com o uso de 1 mg/dia de estradiol oral, sugerindo uma ação direta deste sobre os hepatócitos (36).

Alguns autores demonstraram correlação positiva entre baixos níveis de IGFBP-1 e marcadores intermediários para doença cardiovascular em pacientes não-diabéticas (37,38). Um outro estudo também demonstrou correlação positiva entre baixos níveis séricos de IGFBP-1 e doença macrovascular e hipertensão em pacientes diabéticos, sugerindo que concentrações elevadas de IGFBP-1 possam proteger contra doença cardiovascular, reduzindo o potencial mitogênico das IGF na vasculatura (39). Níveis baixos de IGF-1 e de IGFBP-1 associados a níveis elevados de PCR também foram implicados na patogênese da síndrome metabólica e da doença cardiovascular (40). No nosso ensaio, observamos redução de IGF-1 e aumento significativo de IGFBP-1 com o uso de estrógenos orais, porém sem alterar a PCR-US.

Na medida em que todas as pacientes estudadas apresentavam hipopituitarismo e receberam uma dose fixa de GH (0,5 UI/dia), as variações de IGF-1 e IGFBP-1 observadas não decorreram de possíveis efeitos centrais dos estrógenos, modificando a secreção de GH. Ao contrário, esses efeitos parecem depender principalmente das ações hepáticas dos estrógenos orais, também responsáveis pela elevação do HDL-colesterol (26). Como a variação de IGFBP-1 correlacionou-se inversamente com a variação dos níveis de insulina no grupo que utilizou estrógenos orais, poderíamos esperar uma redução na secreção de insulina, com conseqüente elevação da glicemia e/ou alteração de sua ação periférica. Porém, na medida em que os níveis glicêmicos se mantiveram inalterados, com menores níveis de insulina, podemos inferir que houve uma melhora na ação periférica da insulina, muito embora não expressa através do índice HOMA. Especula-se, ainda, que a redução dos níveis de IGF-1 poderia estar aumentando a ação da insulina e, conseqüentemente, provocaria redução relativa de seus níveis séricos e manutenção dos níveis normais da glicemia. De qualquer forma, independente do mecanismo presente, a elevação da IGFBP-1 e a redução de

IGF-1 séricos decorrentes da administração estrogênica oral estabelecem uma situação de relativa resistência à ação do GH. Essas mudanças poderiam se refletir clinicamente com o surgimento de algumas alterações associadas à deficiência de GH, tais como aumento da gordura troncular, aumento do peso corporal, alterações do perfil lipídico, aumento da PCR-US e alterações no metabolismo da glicose, o que não foi observado no nosso estudo. Essas alterações clínicas podem não ter ocorrido pelo tempo de *follow-up*, que foi de 3 meses e possivelmente insuficiente para que algumas modificações pudessem ser observadas.

Em conclusão, nossos dados demonstram que a administração de estrógenos por via oral em pacientes com hipopituitarismo reduz significativamente a ação do GH, modificando os níveis séricos totais de IGF-1 e, possivelmente, a sua fração livre. Esses achados sugerem que o emprego da reposição estrogênica seja realizado por via transdérmica nessas pacientes, reduzindo também as doses de GH necessárias para obtenção de níveis adequados de IGF-1, o que potencialmente reduz o custo do tratamento e amplia as ações metabólicas e fisiológicas do GH, repercutindo favoravelmente na correção do quadro clínico e na melhoria da qualidade de vida dessas pacientes.

Referências

1. Leung KC, Johannsson G, Leong GM, Ho KK. Estrogen regulation of growth hormone action. *Endocr Rev.* 2004;25(5):693-721.
2. Bellantoni MF, Vittone J, Campfield AT, Bass KM, Harman SM, Blackman MR. Effects of oral versus transdermal estrogen on the growth hormone/insulin-like growth factor I axis in younger and older postmenopausal women: a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(8):2848-53.
3. Cano A, Castelo-Branco C, Tarín JJ. Effect of menopause and different combined estradiol-progestin regimens on basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated serum growth hormone, insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-1, and IGFBP-3 levels. *Fertil Steril.* 1999;71(2):261-7.
4. Cardim HJ, Lopes CM, Giannella-Neto AM, da Fonseca AM, Pinotti JA. The insulin-like growth factor-I system and hormone replacement therapy. *Fertil Steril.* 2001;75:282-7.
5. Heald A, Selby PL, White A, Gibson M. Progestins abrogate estrogen-induced changes in the insulin-like growth factor axis. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(3):593-600.
6. Helle SI, Omsjo IH, Hughes SC, Botta L, Huls G, Holly JM, et al. Effects of oral and transdermal oestrogen replacement therapy on plasma levels of insulin-like growth factors and IGF binding proteins 1 and 3: a cross-over study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1996;45(6):727-32.
7. Kam GYW, Leung KC, Baxter RC, Ho K. Estrogens exert route- and dose-dependent effects on insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 and the acid-labile subunit of the IGF ternary complex. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(5):1918-22.

8. Kelly JJ, Rajkovic IA, O'Sullivan AJ, Sernia C, Ho KK. Effects of different oral oestrogen formulations on insulin-like growth factor-I, growth hormone and growth hormone binding protein in post-menopausal women. *Clin Endocrinol.* 1993;39(5):561-7.
9. Nugent AG, Leung KC, Sullivan D, Reutens AT, Ho KK. Modulation by progestogens of the effects of oestrogen on hepatic endocrine function in postmenopausal women. *Clin Endocrinol.* 2003;59(6):690-8.
10. O'Sullivan AJ, Ho KK. A comparison of the effects of oral and transdermal estrogen replacement on insulin sensitivity in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(6):1783-8.
11. Goodman-Gruen D, Barrett-Connor E. Effect of replacement estrogen on insulin-like growth factor-I in postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(12):4268-71.
12. Gram IT, Norat T, Rinaldi S, Dossus L, Lukanova A, Tehard B, et al. Body mass index, waist circumference and waist-hip ratio and serum levels of IGF-I and IGFBP-3 in European women. *Int J Obes (Lond).* 2006;30(11):1623-31.
13. Holmes MD, Pollak MN, Hankinson SE. Lifestyle correlates of plasma insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(9):862-7.
14. Morimoto LM, Newcomb PA, White E, Bigler J, Potter JD. Variation in plasma insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3: personal and lifestyle factors (United States). *Cancer Causes Control.* 2005;16(8):917-27.
15. Vestergaard P, Hermann AP, Orskov H, Mosekilde L. Effect of sex hormone replacement on the insulin-like growth factor system and bone mineral: a cross-

- sectional and longitudinal study in 595 perimenopausal women participating in the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(7):2286-90.
16. Wolthers T, Hoffman DM, Nugent AG, Duncan MW, Umpleby M, Ho KK. Oral estrogen antagonizes the metabolic actions of growth hormone in growth hormone-deficient women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(6):E1191-6.
 17. Bellantoni MF, Harman SM, Cho DE, Blackman MR. Effects of progestin-opposed transdermal estrogen administration on growth hormone and insulin-like growth factor-I in postmenopausal women of different ages. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(1):172-8.
 18. Ho K, Weissberger AJ. Impact of short-term estrogen administration on growth hormone secretion and action: distinct route-dependent effects on connective and bone tissue metabolism. *J Bone Miner Res.* 1992;7:821-7.
 19. Weissberger AJ, Ho KK, Lazarus L. Contrasting effects of oral and transdermal routes of estrogen replacement therapy on 24-hour growth hormone (GH) secretion, insulin-like growth factor I, and GH-binding protein in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(2):374-81.
 20. Sonnet E, Lacut K, Roudaut N, Mottier D, Kerlan V, Oger E. Effects of the route of oestrogen administration on IGF-1 and IGFBP-3 in healthy postmenopausal women: results from a randomized placebo-controlled study. *Clin Endocrinol.* 2007;66(5):626-31.
 21. Friend KE, Hartman ML, Pezzoli SS, Clasey JL, Thorner MO. Both oral and transdermal estrogen increase growth hormone release in postmenopausal women--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(6):2250-6.

22. Aiello EJ, Tworoger SS, Yasui Y, Stanczyk FZ, Potter J, Ulrich CM, et al. Associations among circulating sex hormones, insulin-like growth factor, lipids, and mammographic density in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(6):1411-7.
23. Sandhu MS, Heald AH, Gibson JM, Cruick. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and development of glucose intolerance. *Lancet.* 2002;359:1740-5.
24. Renenham AG, Frystyk J, Howell A, O'Dwyer ST, Shalet SM, Flyvbjerg A. The effects of sex steroid replacement therapy on an expanded panel of IGF-related peptides. *Growth Hormone & IGF Res;* 2007.
25. Lu X, Shi Z, Murphy LJ. Growth hormone suppression of insulin-like growth factor binding protein-1 promoter activity. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;149:19-28.
26. Paasilta M, Karjalainen A, Kervinen K, Savolainen MJ, Heikkinen J, Backstrom AC, et al. Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and IGF-1 during oral and transdermal estrogen replacement therapy: relation to lipoprotein(a) levels. *Atherosclerosis.* 2000;149(1):157-62.
27. Karjalainen A, Paasilta M, Heikkinen J, Backstrom AC, Savolainen M, Kesaniemi YA. Effects of peroral and transdermal oestrogen replacement therapy on glucose and insulin metabolism. *Clin Endocrinol.* 2001;54(2):165-73.
28. Ravn P, Overgaard K, Spencer EM, Christiansen C. Insulin-like growth factors I and II in healthy women with and without established osteoporosis. *Eur J Endocrinol.* 1995;132(3):313-9.
29. Garnero P, Tsouderos Y, Marton I, Pelissier C, Varin C, Delmas PD. Effects of intranasal 17 β -estradiol on bone turnover and serum insulin-like growth factor I in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(7):2390-7.

30. Edén S, Wiklund O, Oscarsson J, Rosén T, Bengtsson BA. Growth hormone treatment of growth hormone-deficient adults results in a marked increase in Lp(a) and HDL cholesterol concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1993;13:296-301.
31. Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE. Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1981;240(6):E630-9.
32. Lee PD, Giudice LC, Conover CA, Powell DR. Insulin-like growth factor binding protein-1: Recent findings and new directions. *Proc Soc Exp Biol Res* 1997; 204:4-29.
33. Baxter RC. Circulation binding proteins for the insulin-like growth factors. *Trends Endocrinol Metab.* 1993;4:91-6.
34. Lewitt MS, Denyer GS, Cooney GJ, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-1 modulates blood glucose levels. *Endocrinology.* 1991;129(4):2254-6.
35. Diel P, Walter A, Fritzemeier KH, Hegele-Hartung C, Knauthe R. Identification of estrogen regulated genes in Fe33 rat hepatoma cells by differential display polymerase chain reaction and their hormonal regulation in rat liver and uterus. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;55:363-73.
36. Mozzanega B, Babbo GL, Salmaso L, De Toni R, Schiavo A, Mioni R, et al. Oral 17beta-estradiol and sequential progesterone in menopause: effects on insulin-like growth factors and their binding proteins. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23(1):50-7.
37. Heald AH, Cruickshank JK, Riste LK, Cade JE, Anderson S, Greenhalgh A, et al. Close relation of fasting insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) with glucose tolerance and cardiovascular risk in two populations. *Diabetologia.* 2001;44(3):333-9.

38. Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, Grobbee DE, Lamberts SW. Serum total IGF-I, free IGF-I, and IGFBP-1 levels in an elderly population: relation to cardiovascular risk factors and disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(2):277-82.
39. Heald AH, Siddals KW, Fraser W, Taylor W, Kaushal K, Morris J, et al. Low circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) are closely associated with the presence of macrovascular disease and hypertension in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002;51(8):2629-36.
40. Kaushal K, Heald AH, Siddals KW, Sandhu MS, Dunger DB, Gibson JM, et al. The impact of abnormalities in IGF and inflammatory systems on the metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 2004;27(11):2682-8.

Tabela 1 - Caracterização da amostra no início do estudo

Características	n = 11
Idade (anos) *	36,1 ± 10,2
Etnia **	
Branco	10 (90,9)
Preto	1 (9,1)
Peso (kg) *	59,7 ± 10,4
Altura (m) *	1,55 ± 0,04
IMC (kg/m ²)*	24,7 ± 3,9
RCQ *	0,95 ± 0,04

RCQ: relação cintura/quadril

* Média ± desvio padrão

** n (%)

Tabela 2 - Características clínicas das mulheres com hipopituitarismo

Características clínicas	n = 11
Nº de deficiências hormonais **	
Gonadotrófica	11 (100%)
Tireotrófica	8 (72,7%)
Somatotrófica	11 (100%)
Corticotrófica	9 (81,8%)
Causas do hipopituitarismo **	
Doença de Cushing	6 (54,5)
Craniofaringioma	2 (18,2)
Disgerminoma	1 (9,1)
Sela vazia	1 (9,1)
Sheehan	1 (9,1)
Cirurgia **	9 (81,8)
Radioterapia **	2 (18,2)
Teste **	
Glucagon	6 (54,5)
Hipoglicemia insulínica	5 (45,5)
Tempo de uso de GH (meses) *	7 (2-19)

* Mediana (mínimo/máximo)

** n (%)

Tabela 3 - Comparação entre as vias de administração no início do estudo

Variáveis	Via oral (n = 6)	Via transdérmica (n = 5)	p
Peso (kg) *	60,8 ± 14,2	58,4 ± 3,6	0,724****
Altura (m) *	1,56 ± 0,03	1,55 ± 0,05	0,908****
IMC (kg/m ²) *	24,9 ± 5,2	24,2 ± 2,2	0,783****
RCQ *	0,97 ± 0,05	0,94 ± 0,04	0,285****
PAS (mmHg) *	115,5 ± 13,8	123,7 ± 20,9	0,459****
PAD (mmHg) *	76,9 ± 12,8	83,3 ± 13,9	0,452****
FC (bpm) *	81,3 ± 11,8	75,2 ± 11,4	0,405****
Espessura endometrial (cm) **	0,2 (0,1-0,8)	0,3 (0,1-0,4)	0,931****
Estradiol (pg/mL) **	10,1 (5-54,7)	12,7 (7,4-33,4)	0,662****
IGF-1 (ng/mL) **	195,6 (40,7-461,5)	166,5 (148,8-340,4)	0,662****
IGFBP-3 (ng/mL) **	3480 (1370-5376)	2877 (2140-4730)	0,662****
IGFBP-1 (ng/mL) **	14,9 (5,0-56,2)	29,9 (5,0-49,7)	0,537****
Glicose (mg/mL) *	96,5 ± 9,9	84,8 ± 10,7	0,092****
Insulina (μUI/mL) **	11,9 (2,1-23,1)	3,10 (2,7-24,3)	0,429****
Peptídio C (ng/mL) *	1,52 ± 0,80	1,58 ± 0,85	0,904****
HOMA **	5,22 (4,72-6,10)	4,38 (4,22-5,55)	0,126****
Colesterol total (mg/dL) *	222,0 ± 27,5	235,8 ± 70,6	0,698****
HDL (mg/dL) *	54,0 ± 19,3	61,4 ± 13,0	0,486****
LDL (mg/dL) *	188,4 ± 53,1	157,5 ± 80,5	0,464****
Triglicérides (mg/dL)*	231,2 ± 116,1	192,0 ± 178,4	0,671****
Proteína C reativa US (mg/L) **	6,83 (0,54-8,62)	3,16 (1,31-7,31)	0,247****
Tempo de uso de GH (meses) **	7,5 (3-19)	7,0 (2-12)	0,537****
Dose de GH (UI/dia) **	0,5 (0,25-0,50)	0,5 (0,25-1,00)	0,792****

* Média ± desvio padrão

** Mediana (mínimo/máximo)

*** Valor obtido pelo teste *t* de Student

**** Valor obtido pelo teste de Mann-Whitney

Tabela 4 - Comparação entre as fases do estudo conforme a via de administração

Variáveis	Via oral (n = 6)			Via transdérmica (n = 5)		
	Basal	Pós 3	p	Basal	Pós 3	p
Peso (kg) *	60,8±14,2	61,7±15,4	0,280***	58,4±3,6	59,1±5,0	0,581***
IMC (kg/m ²) *	25,0±5,2	25,4±5,7	0,272***	24,3±2,3	24,6±2,7	0,593***
RCQ *	0,97±0,05	0,96±0,05	0,576***	0,94±0,04	0,94±0,04	0,374***
PAS (mmHg) *	115,6±13,8	118,2±20,5	0,567***	123,7±20,9	121,3±15,7	0,711***
PAD (mmHg) *	77,0±12,8	78,9±14,1	0,619***	83,3±13,9	86,6±11,8	0,333***
FC (bpm) *	81,3±11,8	74,0±9,0	0,202***	75,2±11,4	75,6±8,0	0,914***
Espessura endometrial (cm) **	0,2 (0,1-0,8)	0,9 (0,3-1,5)	0,027*****	0,3 (0,1-0,4)	0,6 (0,2-0,8)	0,042*****
Estradiol (pg/mL) **	10,1 (5-54,7)	133,9 (7,4-197,9)	0,046*****	12,7 (7,4-33,4)	36,1 (17,4-84,4)	0,043*****
IGF-1 (ng/mL) **	195,6 (40,7-461,5)	91,3 (34,1-203,9)	0,046*****	166,5 (148,8-340,4)	122,3 (101,9-339,2)	0,500*****
IGFBP-3 (ng/mL) **	3480 (1370-5376)	2790 (1530-6330)	0,463*****	2877 (2140-4730)	3600 (2830-3790)	0,500*****
IGFBP-1 (ng/mL) **	14,9 (5,0-56,2)	40,6 (7,9-62,2)	0,028*****	29,9 (5,0-49,7)	12,2 (5-41,1)	0,144*****
Glicose (mg/mL) *	96,5 ± 9,9	89,0 ± 7,5	0,124***	84,8 ± 10,7	84,0 ± 6,4	0,830***

Insulina (μ UI/mL) **	11,9 (2,1-23,1)	10,2 (1,8-32,5)	0,893****	3,10 (2,7-24,3)	5,79 (2,82-10,9)	0,686****
Peptídeo C (ng/mL) *	1,5 \pm 0,8	2,0 \pm 1,4	0,385***	1,6 \pm 0,9	1,2 \pm 0,5	0,401***
HOMA **	5,22 (4,72-6,10)	5,04 (4,22-5,38)	0,116****	4,38 (4,22-5,55)	4,49 (4,44-5,27)	0,893****
Colesterol total (mg/dL) *	222 \pm 27,5	239,3 \pm 36,4	0,280***	235,8 \pm 70,6	224,0 \pm 71,1	0,083***
HDL (mg/dL) *	54,0 \pm 19,3	68,7 \pm 24,0	0,003***	61,4 \pm 13,0	61,4 \pm 19,7	1,000***
LDL (mg/dL) *	188,4 \pm 53,1	177,4 \pm 56,0	0,531***	157,5 \pm 80,5	152,5 \pm 68,2	0,428***
Triglicerídeos (mg/dL) *	231,2 \pm 116,1	243,2 \pm 124,2	0,679***	192,0 \pm 178,5	159,4 \pm 119,6	0,300***
Proteína C reativa US (mg/L) **	6,8 (0,5-8,6)	5,0 (1,5-10,3)	0,917****	3,2 (1,3-7,3)	1,1 (0,6-5,5)	0,043****

* Média \pm desvio padrão

** Mediana (mínimo/máximo)

*** Valor obtido pelo teste t para amostras pareadas

**** Valor obtido pelo teste de Wilcoxon

Tabela 5 - Comparação entre os grupos em relação à variação dos valores do terceiro mês para o estado basal

Variáveis	Variação do 3º mês para o basal			
	Via oral	Via transdérmica	IC 95%	p***
	Média ± DP	Média ± DP		
IMC (kg/m ²) *	0,37±0,74	0,30±1,17	0,07 (-1,24-1,38)	0,909
RCQ *	-0,003±0,01	0,006±0,01	-0,009 (-0,03-0,009)	0,285
PAS (mmHg) *	2,7±10,7	-2,3±13,1	5,0 (-11,2-21,2)	0,502
PAD (mmHg) *	1,9±8,7	3,3±6,8	-1,4 (-12,3-9,4)	0,770
FC (bpm) *	-7,3±12,2	0,4±7,8	-7,7 (-22,1-6,7)	0,255
Espessura endometrial (cm) **	0,62±0,43	0,26±0,18	0,36 (-0,11-0,83)	0,120
Estradiol (pg/mL) **	96,9±68,1	24,9±17,0	72 (0,72-143,2)	0,048
IGF-1 (ng/mL) **	-132,8±122,1	-14,4±67,3	-118,4 (-257,4-20,6)	0,086
IGFBP-3 (ng/mL) **	-293,5±904,4	152,6±752,9	-446,1 (-1597,4-705,2)	0,404
IGFBP-1 (ng/mL) **	17,2±15,0	-8,7±14,9	25,9 (5,4-46,4)	0,019
Glicose (mg/mL) *	-7,5±9,9	-0,8±7,8	-6,7 (-19,1-5,7)	0,252

Insulina (μ UI/mL) **	0,92 \pm 7,7	-0,79 \pm 7,3	1,71 (-8,6-12,0)	0,717
Peptídeo C (ng/mL) *	0,46 \pm 1,19	-0,34 \pm 0,82	0,8 (-0,62-2,2)	0,233
HOMA **	-0,42 \pm 0,55	-0,04 \pm 0,43	-0,38 (-1,06-0,31)	0,249
Colesterol total (mg/dL) *	17,3 \pm 35,1	-11,8 \pm 11,5	29,1 (-8,2-66,4)	0,111
HDL (mg/dL) *	14,7 \pm 6,7	0,0 \pm 8,9	14,7 (4,0-25,3)	0,012
LDL (mg/dL) *	-11,0 \pm 40,0	-5,0 \pm 12,7	-6,0 (-48,4-36,4)	0,757
Triglicéridos (mg/dL) *	12,0 \pm 67,0	-32,6 \pm 61,2	44,6 (-43,8-133)	0,283
Proteína C reativa US (mg/L) **	-0,38 \pm 2,7	-1,67 \pm 0,96	1,29 (-1,6-4,2)	0,344

* Média \pm desvio padrão

** Mediana (mínimo/máximo)

*** Valor obtido pelo teste *t* de Student para amostras independentes

Tabela 6 - Correlações entre as variáveis em estudo e IGF-1 e suas proteínas ligadoras conforme o grupo

Variáveis	Variações do 3º mês para o basal		
	Insulina	Glicose	HOMA
Oral (variação do 3º mês para o basal)			
IGF-1	0,434	-0,686	-0,682
IGFBP-1	-0,815*	0,063	0,060
IGFBP-3	0,189	0,305	0,302
Transdérmico (variação do 3º mês para o basal)			
IGF-1	0,562	0,193	0,195
IGFBP-1	-0,496	-0,052	-0,051
IGFBP-3	0,221	-0,333	0,336

* $p < 0,05$

Legendas das figuras:

Figura 1 - Avaliação dos valores de IGF-1 antes e após o uso de estrógeno conforme a via de administração. A caixa representa a amplitude interquartílica (p25-p75); a mediana é apresentada como uma linha dentro da caixa; as linhas inferior e superior do gráfico indicam observações extremas, que estão a uma distância de 1,5 vezes a amplitude interquartílica. Valores que ultrapassaram esses limites são denominados de valores extremos (*outliers*).

Figura 2 - Avaliação dos valores de IGFBP-3 antes e após o uso de estrógeno conforme a via de administração. A caixa representa a amplitude interquartílica (p25-p75); a mediana é apresentada como uma linha dentro da caixa; as linhas inferior e superior do gráfico indicam observações extremas, que estão a uma distância de 1,5 vezes a amplitude interquartílica.

Figura 3 - Avaliação dos valores de IGFBP-1 antes e após o uso de estrógeno conforme a via de administração. A caixa representa a amplitude interquartílica (p25-p75); a mediana é apresentada como uma linha dentro da caixa; as linhas inferior e superior do gráfico indicam observações extremas, que estão a uma distância de 1,5 vezes a amplitude interquartílica. Valores que ultrapassaram esses limites são denominados de valores extremos (*outliers*).

Figura 4 - Relação entre as variações de insulina e IGFBP-1 do terceiro mês para o basal no grupo oral.

Figura 1

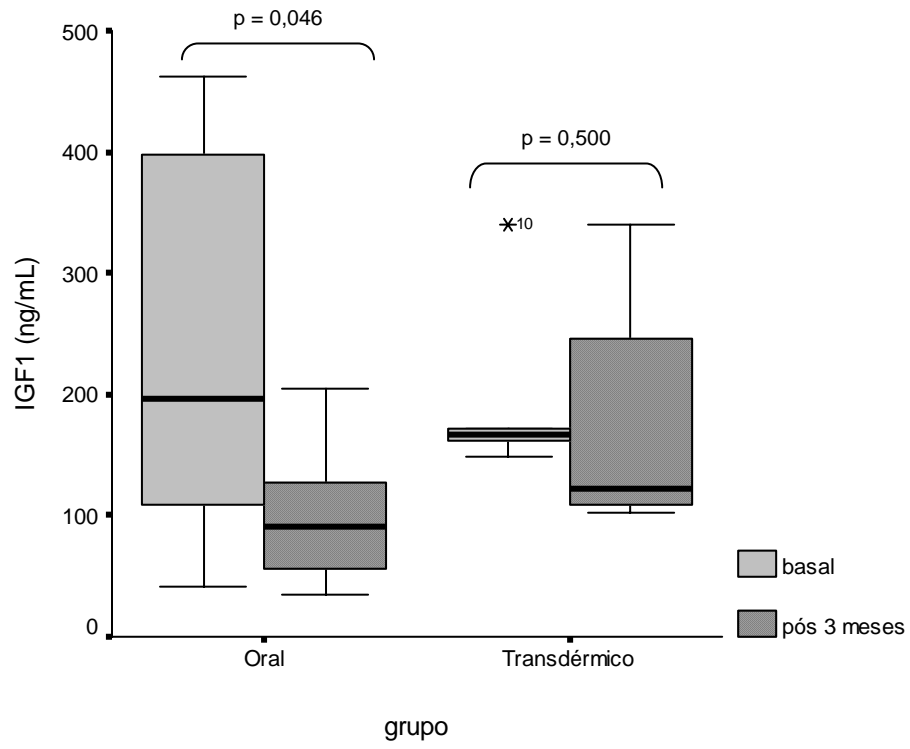


Figura 2

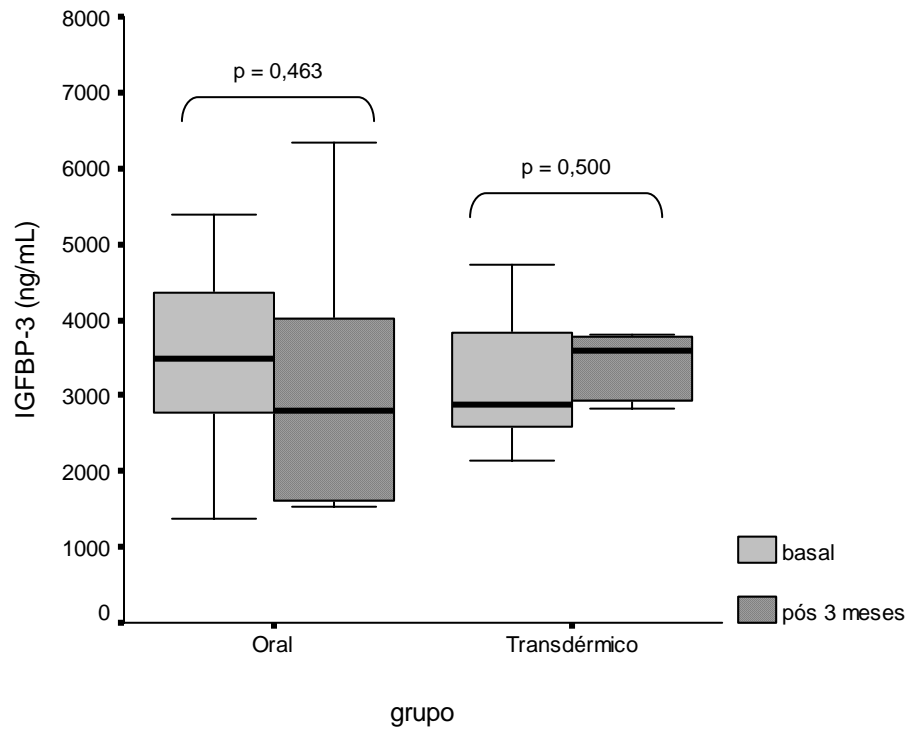


Figura 3

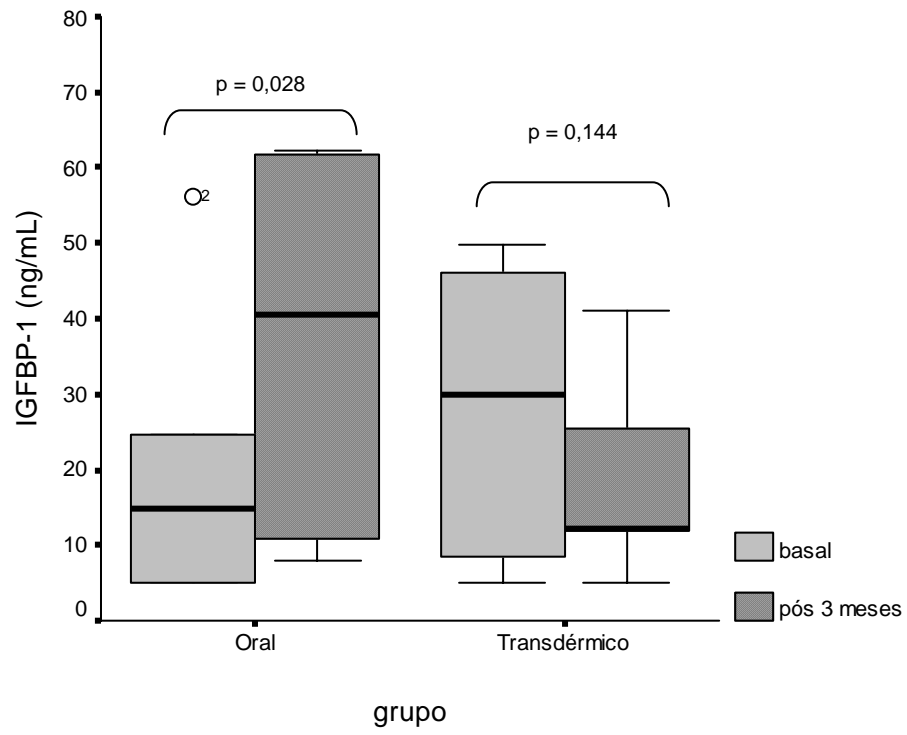
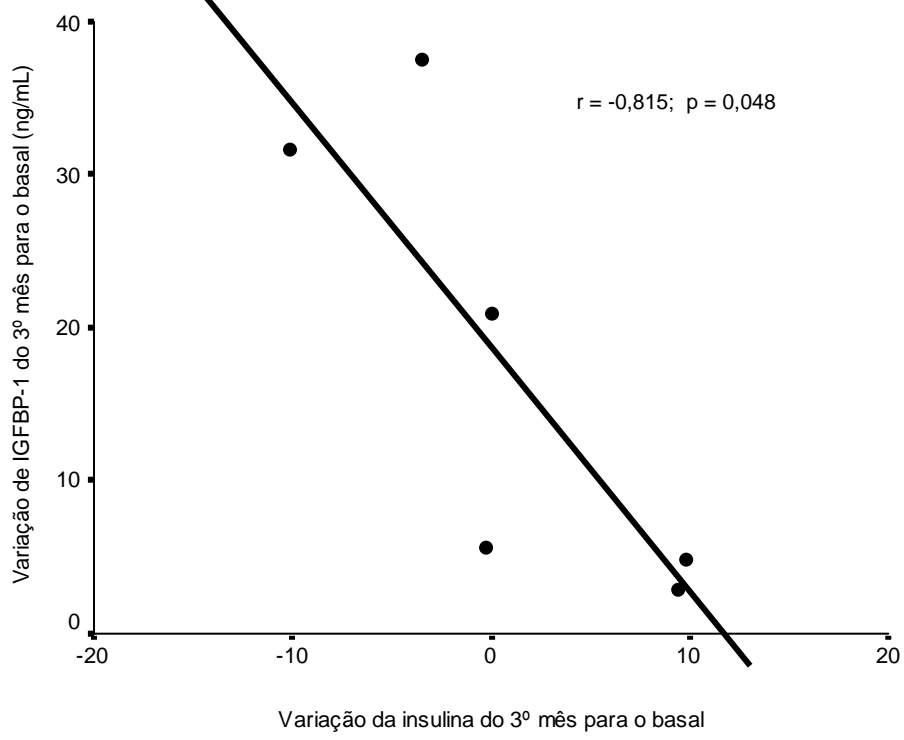


Figura 4



ORIGINAL ARTICLE

Effects of oral and transdermal estrogen on IGF-1, IGFBP-3, IGFBP-1 and metabolism of lipids and glucose in patients with hypopituitarism during growth hormone treatment: a randomized study

Short title: Estrogen replacement and metabolic effects of GH

Isotton AL, Wender MCO, Casagrande A, Rollin G, Oliveira C, Czepielewski MA.

Endocrinology Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil.

Medical Sciences Postgraduate Program: Endocrinology, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

Corresponding author:

Mauro Antônio Czepielewski

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar

CEP 90035-003 - Porto Alegre, RS - Brazil

Tel.: +55-51-3316-5600

E-mail: maurocze@terra.with.br

Abstract

Previous studies with postmenopausal patients have demonstrated that administering estrogen by different routes has different effects on GH and IGF-1 concentrations. Oral administration of estrogen reduces serum IGF-1 levels and increases IGFBP-1 concentrations. These effects are not, however, present when the transdermal estrogen route is employed. The primary objective of this study was to evaluate the effects of oral administration of estradiol and of 17β transdermal estradiol on serum concentrations of IGF-1 and its binding proteins in women with hypopituitarism. The sample consisted of 11 patients with hypopituitarism, who were allocated at random to receive either 2 mg of oral estradiol ($n = 6$) or 50 μg of 17β transdermal estradiol ($n = 5$) for 3 months. In the group given oral estrogens, we observed a significant reduction in IGF-1 levels compared with baseline values (a mean drop of $42.7\% \pm 41.4$, $p = 0.046$), whereas there was no difference in the group using transdermal estrogens. There was a significant increase in IGFBP-1 levels over baseline values (mean increase of $170.2\% \pm 230.9$, $p = 0.028$) in the oral group, but not in the transdermal group. Our data indicate that the route of estrogen administration can influence IGF-1 levels and also IGFBP-1 levels. The clinical relevance of these findings in patients with hypopituitarism has an influence on their response to treatment with GH, since those patients who are given oral estrogen require an increase in their GH dosage. Nevertheless, there is a need to ascertain the clinical significance of oral estrogen reducing IGF-1 with reference to these patients' risk of developing cardiovascular disease.

Keywords: estrogens, IGF-1, IGFBP-1, IGFBP-3, GH, hypopituitarism.

Introduction

There is considerable evidence that the use of estrogens by women has an influence on the GH-IGF-1 axis (1). Particularly when they are administered by the oral route, they reduce serum concentrations of total IGF-1, which has been observed both in small intervention studies (2-10) and in large cross-sectional studies (11-15). These findings have been observed both in postmenopausal women and those with hypopituitarism.

It is presumed that oral estrogen inhibits the secretion/production of IGF-1 by means of a first-pass hepatic effect, causing an increase in secretion of GH by means of inhibiting the negative feedback of IGF-1 (1,6). In GH-deficient patients, these changes compromise the action of the GH and, consequently, suppress lipid oxidation and cause changes to body composition (16).

Studies of the transdermal route of estrogen administration have demonstrated that the effect on GH secretion is absent and that the effect on or increase in serum IGF-1 concentrations is also absent, probably because it does not undergo hepatic metabolism and accesses systemic circulation directly (2,17-20). Nevertheless, a study with postmenopausal women demonstrated a 26% reduction in serum IGF-1 concentrations, which is similar to that which occurs with oral preparations, suggesting that estrogens circulating during the normal menstrual cycle regulate GH secretion and that GH exhibits higher concentrations during the late follicular phase, when estradiol concentrations are highest (21).

Around 75% of IGF-1 circulates in plasma by formation of a ternary complex with IGFBP-3 and the acid-labile subunit (ALS). Studies of oral estrogens have provided inconsistent results in relation to IGFBP-3 concentrations, with reports of reduced serum levels (5,7,13), increased levels (22) or an absence of effects (2,4,6,12,14,15).

An insulin-modulated binding protein of IGF, IGFBP-1 regulates the rate of free IGF-1. Serum IGFBP-1 levels are inversely related to the development of diabetes mellitus type 2, particularly in the presence of reduced IGF-1 concentrations (23). Helle et al. (1996) demonstrated a 46% increase in serum IGFBP-1 levels after use of oral estrogens (6), and their findings were later confirmed by other authors (4,5). In a recent study it was observed that the IGFBP-1/IGF-1 ratio increased with a similar magnitude to the increase in IGFBP-1. Insulin negatively regulates transcription of IGFBP-1 messenger RNA in hepatocytes. However, since this study demonstrated that oral estrogens had no effect on serum insulin levels, it was suggested that the increase in serum IGFBP-1 levels, induced by oral estrogens, could be a factor that is independent of insulin (24). On the other hand, there is evidence that GH negatively regulates IGFBP-1 transcription in hepatocytes in vitro, that GH- deficiency is associated with elevated IGFBP-1 levels and that these events occur in the absence of the action of insulin (25).

The primary objective of this study was to investigate the interrelationships between estrogen administration routes and concentrations of IGF-1 and its binding proteins and also with a selection of clinical, hormonal and biochemical variables of glucose and lipid metabolism, in patients with hypopituitarism during GH-replacement treatment. In these patients GH secretion could not be modulated under the influence of estrogen since they have GH- deficiency. Therefore, any changes that may occur will be reflections of other metabolic effects, independent of GH secretion.

Patients and methods

The study sample comprised 11 female patients with organic and secondary hypopituitarism, aged from 18 to 50 years (table 1) and selected from a group of 36 patients

treated at the neuroendocrinology clinic at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). The study was approved by the Research Ethics Committee at the HCPA and all of the patients who agreed to participate gave their permission in the form of a free and informed consent form. Hypopituitarism was diagnosed by means of assaying the basal hormones T4, TSH, Estradiol, LH, FSH, Cortisol, ACTH and IGF-1. Growth hormone deficiency was diagnosed by insulin-induced hypoglycemia (n = 5) or glucagon stimulation test (n = 6), with patients considered normal if their GH peak was greater than 3 ng/ml (table 2). All of the patients were receiving regular treatment to correct other hormone deficiencies. With relation to growth hormone, at the study outset, patients had been on 0.5 UI/day of Norditropin® (Novo Nordisk, Brazil) for at least 2 months and had normal IGF-1 levels for their ages. The majority of the patients had not been given gonadal steroids (6/11) and those who had taken them (5/11) had had them withdrawn at least 3 months before the study began.

Patients were excluded if they were diabetic, obese, had liver or kidney disease or if they were less than 18 or more than 50 years old. Previous endocrinopathies, and those whose treatment caused the hypopituitarism, were no longer active at the time of the study, while it should be noted that the six patients who had had Cushing's disease in the past required glucocorticoid replacement and that the patients with craniopharyngioma and dysgerminoma had not exhibited any sign whatsoever of tumor activity for many years.

The patients selected were randomized to receive either 2 mg of estradiol orally (Estrofem®, Novo Nordisk) or 50 µg of transdermal estradiol for 3 months (System®, Janssen-Cilag) and, subsequently, 1mg of oral norethisterone (Micronor®, Janssen-Cilag) was added for a further 3 months to provide endometrial protection.

Assays and methods employed

The IGF-1 concentrations were determined by immunoradiometric assay (IRMA), DSL-5600 Active (Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, Texas), with intra-assay and interassay coefficient of variation of 3.9% and 4.2%, respectively, by the HCPA Radioimmunoassay Laboratory.

Levels of IGFBP-3 were determined by IRMA, DSL 6600 Active (Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, Texas), with intra-assay and interassay coefficients of variation of 3.9% and 0.6%, respectively, by the Instituto Fleury in São Paulo.

The IGFBP-1 concentrations were determined by IRMA, DSL 7800 Active (Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, Texas), by the Nichols Institute, USA, with intra-assay and interassay coefficients of variation of 2.7% and 3.6%.

The remaining hormone assays were performed at the HCPA Radioimmunoassay Laboratory; estradiol and C-peptide were measured using the chemoluminescence immunoassay (CLIA) method, and insulin was assessed by the radioimmunoassay (RIA) method.

Ultra-sensitive C-reactive protein was measured using nephelometry with CardioPhase hsCRP reagents (Dade Behring, Inc., USA); intra- and interassay variation coefficients were 3.1 and 2.5%, respectively.

Biochemical tests were performed according to the HCPA General Laboratory's routine methods. The HOMA-IR (homeostasis model assessment- insulin resistance) index was used to detect insulin resistance, calculated using the formula:

$$\text{HOMA-IR} = [(\text{fasting glycemia in mg/dL} \times 0.05551) \times \text{fasting insulin in } \mu\text{U/mL}] / 22.5.$$

The clinical variables utilized were: body weight, body mass index (BMI=weight/height²), arterial blood pressure and waist-hip ratio, dividing the greatest diameter of each circumference. In order to investigate possible estrogen-related effects, we also assessed endometrial thickness, by means of transvaginal echography, using a General Electric (GE) LOGIC 200 PRO with an endocavity transducer at a frequency of 7.5 mHz.

Statistical analysis

Quantitative variables were described in terms of mean and standard deviation when symmetrical or median and amplitude of variation (maximum-minimum) in asymmetrical cases. Categorical variables were described in terms of absolute and relative frequencies.

Student's t test was used to compare the groups (oral and transdermal) in terms of quantitative variables with normal distribution. In cases of asymmetry, the Mann-Whitney was applied.

In order to compare baseline assessments with results after 3 months on estrogen, for each route, the t test for paired samples or the Wilcoxon test were applied, depending on the distribution of each variable.

Pearson's correlation coefficient was used to analyze associations between variations from the 3rd month to baseline.

The level of significance adopted was 5%, and $p \leq 0.05$ was considered statistically significant. Data were analyzed using SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 12.0.

Results

The sample was made up of 11 patients with a mean age of 36.1 (\pm 10.2) years and with a predominance of white skin color, in 90.9 % of cases (table 1). With relation to the clinical characteristics of the sample, all of the women exhibited somatotropic and gonadotropic deficiencies and 54.5 % of them presented Cushing's disease as a previous endocrinopathy, the treatment for which resulted in their hypopituitarism (table 2).

At the study outset, the patients in the oral and transdermal groups were similar in terms of levels of IGF-1, IGFBP-1, IGFBP-3 and of the other study variables (table 3).

Over the 3 months of treatment, the mean serum estradiol level increased by 1072% (\pm 1151.4) in the oral group, from 10.1 pg/mL (5-54.7) to 133.9 pg/mL (7.4-197.9), $p = 0.046$ (median – minimum/maximum). In the transdermal group, the mean estradiol level increased by 180.5% (\pm 105.7), i.e., from 12.7 pg/mL (7.4-33.4) to 36.1 pg/mL (17.4-84.4), with $p = 0.043$ (table 4).

Endometrial thickness, analyzed by transvaginal pelvic echography, increased 297.9% (\pm 219.1) in the oral group ($p = 0.027$) and 110% (\pm 43.5) in the transdermal group ($p = 0.042$).

During the treatment with oral estrogens, the median IGF-1 level dropped significantly (mean 42.7 % \pm 41.4) in relation to the baseline value, from 195.6 ng/mL (40.7-461.5) to 91.3 ng/mL (34.1-203.9), with $p = 0.046$. In the transdermal group, median IGF-1 at the start of treatment was 166.5 ng/mL (148.8-340.4) and after 3 months of treatment it was 122.3 ng/mL (101.9-339.2), with $p = 0.500$ (figure 1). There was also no significant difference within either group with relation to median IGFBP-3 levels (figure 2).

In contrast, we observed significant increases in IGFBP-1 levels in the oral group, a mean increase of 170.2% (\pm 230.9), varying from 14.9 ng/mL (5.0-56.2) at baseline to 40.6 ng/mL (7.9-62.2) at the end of the treatment, with $p = 0.028$. In the transdermal group there

was a non-significant reduction in IGFBP-1, with the baseline level at 29.9 ng/mL (5.0-49.7) becoming 12.2 ng/mL (5.0-41.0) after 3 months of treatment, with $p = 0.144$ (figure 3).

In relation to lipids profiles, there was a significant increase in mean HDL cholesterol levels ($27.8\% \pm 9.3$) in the oral group, from 54.0 ± 19.3 mg/dL at baseline to 68.7 ± 24.0 mg/dL after 3 months of treatment, $p = 0.003$.

There were no differences in anthropometric measurements before and after either treatment, nor were there differences in blood pressures, heart rate, glucose, insulin, C-peptide or the HOMA index (table 5).

Ultra sensitive C-reactive protein results reduced significantly ($52.5\% \pm 21.0$) in the transdermal group from 3.2 mg/L (1.3-7.3) to 1.1 mg/dL (0.6-5.5), with $p = 0.043$. In the oral group, there was no significant difference in US C-reactive protein before and after treatment with estradiol.

The change in IGFBP-1 had a negative correlation with change in insulin (table 6 and figure 4) in the oral group ($r = -0.815$, $p < 0.05$). We also observed a strong and significant correlation between change in triglycerides and change in IGFBP-1 ($r_s -0.829$, $p = 0.042$) in the oral group.

Discussion

In this study, we observed that after 3 months using 2 mg of oral estradiol, IGF-1 levels were significantly reduced, which did not happen after 50 µg of transdermal estradiol. No significant differences were detected in IGFBP-3 levels between the two treatment groups.

Previous studies with postmenopausal women have demonstrated different effects on IGF-1 levels in response to the two routes of estrogen administration (3,6,7,19,26,27). However, the treatment period (2-12 months), the dose of transdermal estradiol (20-100

µg/day) and the types and doses of oral estrogen (ethinylestradiol, 17 β-estradiol, estradiol valerate, conjugated equine estrogens) differed between studies. Furthermore, the majority of these studies were not placebo-controlled and were longitudinal or cross-sectional studies of small groups of patients.

The earlier studies demonstrated 15 to 40% reductions in IGF-1 levels after the use of oral estrogens (3,6,7,19,26,27). In our experiment we observed a 42 % reduction in IGF-1 levels after 2 mg of oral estradiol. Helle et al. employed the same type and dose of oral estrogen and observed 16% reduction in the IGF-1 levels of postmenopausal women (6). Therefore, the accentuated decrease in IGF-1 observed during our experiment appears to be the result of having studied patients with GH deficiency, where secretion of GH could not increase in compensation.

The different effects of different routes of estrogen administration could be the result of different effects on hepatic synthesis of IGF-1, since it has been suggested that oral estrogens reduce IGF-1 levels by suppressing IGF-1 RNAm in the liver (28). Transdermal estrogens are not subjected to the effects of the first pass through the liver and, therefore, do not cause the hepatic changes that result in reduced IGF-1 (6,7,19,27). Another study has also demonstrated that intranasal administration of 17 β-estradiol does not modify serum IGF-1 levels (29).

Oral estrogens provoke increased HDL-cholesterol, without altering the remainder of the lipids profile. These results are in agreement with those observed in a an earlier study with GH-deficient adults, on GH therapy, where the treatment was shown to improve turnover of VLDL and LDL-cholesterol and, consequently, increase concentrations of HDL (30).

Although treatment with GH may result in worsened carbohydrate metabolism and cause insulin resistance (31), our data did not reveal changes in levels of glycemia, insulin, C-peptide or the HOMA index in response to oral estrogens.

The oral estrogens provoked a significant increase in IGFBP-1 levels, which did not take place in response to the transdermal estrogens. This increase was correlated negatively with insulin and triglyceride levels. Since IGFBP-1 is an important inhibitor of the bioactivity of IGF-1 and is an inhibitory regulator of insulin secretion (32,33), it is considered the greatest determinant of the level of IGF-1 free in serum (34). It has been demonstrated that the oral administration of estrogens to rats increased expression of IGFBP-1 RNA in the liver (35). Another study with postmenopausal women demonstrated significant increases in IGFBP-1 after 3 months' use of 2 mg of oral estradiol valerate (26). A 46% increase in serum IGFBP-1 levels was observed by Helle et al. after oral estrogen was given to 8 women who had had undetectable serum progesterone levels; and the suggestion was made that this increase was due to the oral therapy (6). Recently an increase in IGFBP-1 was demonstrated with the use of 1 mg/day of oral estradiol, suggesting a direct action on hepatocytes (36).

Some authors have demonstrated a positive correlation between low IGFBP-1 levels and intermediate markers for cardiovascular disease in non-diabetic patients (37,38). Another study also demonstrated a positive correlation between low serum IGFBP-1 levels and macrovascular disease and hypertension in diabetic patients, suggesting that elevated concentrations of IGFBP-1 could protect against cardiovascular disease, reducing the mitogenic potential of IGFs in the vasculature (39). Low levels of IGF-1 and IGFBP-1 together with elevated ultra-sensitive C-reactive protein levels have also been implicated in the pathogenesis of metabolic syndrome and cardiovascular disease (40). In our experiment

we did not observe changes in ultra-sensitive C-reactive protein, in spite of the reduction in IGF-1 and the increase in IGFBP-1 with the use of oral estrogens.

Since all of the patients studied had hypopituitarism and were receiving a fixed dose of GH (0.5 UI/day), the variations in IGF-1 and IGFBP-1 observed were not the result of possible central effects of estrogens modifying GH secretion. In fact these effects appear to depend primarily on the hepatic actions of oral estrogens, also responsible for the increased HDL-cholesterol (26). Since the variation in IGFBP-1 was inversely correlated with variations in insulin levels in the group given oral estrogens, we might expect a reduction in insulin secretion, with resultant elevation in glycemia and/or alterations to its peripheral action. However, to the extent that glycemic levels remained unaltered, with lower insulin levels, we could infer that there was improved peripheral insulin action, although not expressed in the HOMA index. It is further speculated that the reduced IGF-1 levels could be increasing the action of the insulin and, consequently, provoking a relative reduction in serum levels and maintenance of normal glycemia levels. Nevertheless, irrespective of the mechanism present, increases in IGFBP-1 and reductions in serum IGF-1 resulting from oral administration of estrogen, establish a situation of relative resistance to the action of GH. These changes could be reflected clinically with the emergence of certain abnormalities associated with GH- deficiency, such as increase in trunk fat, increase in body weight, alterations to the lipids profile, increase in C-reactive protein, abnormalities in glucose metabolism, which were not observed in our study. These clinical alterations may not have occurred because of the follow-up time, which was 3 months and was possibly insufficient for some of these modifications to be observed.

In conclusion, our data demonstrate that the administration of estrogen by the oral route to patients with hypopituitarism significantly reduces the action of GH, modifying total

serum IGF-1 levels and, possibly its free fraction. These findings suggest that estrogen replacement should be provided via the transdermal route in these patients, also reducing the doses of GH needed to obtain adequate IGF-1 levels, which could potentially reduce the cost of treatment, amplify the metabolic and physiological actions of GH, with favorable repercussions for correction of the clinical status and improving the quality of life of these patients.

References

1. Leung KC, Johannsson G, Leong GM, Ho KK. Estrogen regulation of growth hormone action. *Endocr Rev.* 2004;25(5):693-721.
2. Bellantoni MF, Vittone J, Campfield AT, Bass KM, Harman SM, Blackman MR. Effects of oral versus transdermal estrogen on the growth hormone/insulin-like growth factor I axis in younger and older postmenopausal women: a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(8):2848-53.
3. Cano A, Castelo-Branco C, Tarín JJ. Effect of menopause and different combined estradiol-progestin regimens on basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated serum growth hormone, insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-1, and IGFBP-3 levels. *Fertil Steril.* 1999;71(2):261-7.
4. Cardim HJ, Lopes CM, Giannella-Neto AM, da Fonseca AM, Pinotti JA. The insulin-like growth factor-I system and hormone replacement therapy. *Fertil Steril.* 2001;75:282-7.
5. Heald A, Selby PL, White A, Gibson M. Progestins abrogate estrogen-induced changes in the insulin-like growth factor axis. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(3):593-600.
6. Helle SI, Omsjo IH, Hughes SC, Botta L, Huls G, Holly JM, et al. Effects of oral and transdermal oestrogen replacement therapy on plasma levels of insulin-like growth factors and IGF binding proteins 1 and 3: a cross-over study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1996;45(6):727-32.
7. Kam GYW, Leung KC, Baxter RC, Ho K. Estrogens exert route- and dose-dependent effects on insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 and the acid-labile subunit of the IGF ternary complex. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(5):1918-22.

8. Kelly JJ, Rajkovic IA, O'Sullivan AJ, Sernia C, Ho KK. Effects of different oral oestrogen formulations on insulin-like growth factor-I, growth hormone and growth hormone binding protein in post-menopausal women. *Clin Endocrinol.* 1993;39(5):561-7.
9. Nugent AG, Leung KC, Sullivan D, Reutens AT, Ho KK. Modulation by progestogens of the effects of oestrogen on hepatic endocrine function in postmenopausal women. *Clin Endocrinol.* 2003;59(6):690-8.
10. O'Sullivan AJ, Ho KK. A comparison of the effects of oral and transdermal estrogen replacement on insulin sensitivity in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(6):1783-8.
11. Goodman-Gruen D, Barrett-Connor E. Effect of replacement estrogen on insulin-like growth factor-I in postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(12):4268-71.
12. Gram IT, Norat T, Rinaldi S, Dossus L, Lukanova A, Tehard B, et al. Body mass index, waist circumference and waist-hip ratio and serum levels of IGF-I and IGFBP-3 in European women. *Int J Obes (Lond).* 2006;30(11):1623-31.
13. Holmes MD, Pollak MN, Hankinson SE. Lifestyle correlates of plasma insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(9):862-7.
14. Morimoto LM, Newcomb PA, White E, Bigler J, Potter JD. Variation in plasma insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3: personal and lifestyle factors (United States). *Cancer Causes Control.* 2005;16(8):917-27.
15. Vestergaard P, Hermann AP, Orskov H, Mosekilde L. Effect of sex hormone replacement on the insulin-like growth factor system and bone mineral: a cross-

- sectional and longitudinal study in 595 perimenopausal women participating in the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(7):2286-90.
16. Wolthers T, Hoffman DM, Nugent AG, Duncan MW, Umpleby M, Ho KK. Oral estrogen antagonizes the metabolic actions of growth hormone in growth hormone-deficient women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(6):E1191-6.
 17. Bellantoni MF, Harman SM, Cho DE, Blackman MR. Effects of progestin-opposed transdermal estrogen administration on growth hormone and insulin-like growth factor-I in postmenopausal women of different ages. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(1):172-8.
 18. Ho K, Weissberger AJ. Impact of short-term estrogen administration on growth hormone secretion and action: distinct route-dependent effects on connective and bone tissue metabolism. *J Bone Miner Res.* 1992;7:821-7.
 19. Weissberger AJ, Ho KK, Lazarus L. Contrasting effects of oral and transdermal routes of estrogen replacement therapy on 24-hour growth hormone (GH) secretion, insulin-like growth factor I, and GH-binding protein in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(2):374-81.
 20. Sonnet E, Lacut K, Roudaut N, Mottier D, Kerlan V, Oger E. Effects of the route of oestrogen administration on IGF-1 and IGFBP-3 in healthy postmenopausal women: results from a randomized placebo-controlled study. *Clin Endocrinol.* 2007;66(5):626-31.
 21. Friend KE, Hartman ML, Pezzoli SS, Clasey JL, Thorner MO. Both oral and transdermal estrogen increase growth hormone release in postmenopausal women--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(6):2250-6.

22. Aiello EJ, Tworoger SS, Yasui Y, Stanczyk FZ, Potter J, Ulrich CM, et al. Associations among circulating sex hormones, insulin-like growth factor, lipids, and mammographic density in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(6):1411-7.
23. Sandhu MS, Heald AH, Gibson JM, Cruick. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and development of glucose intolerance. *Lancet.* 2002;359:1740-5.
24. Renenham AG, Frystyk J, Howell A, O'Dwyer ST, Shalet SM, Flyvbjerg A. The effects of sex steroid replacement therapy on an expanded panel of IGF-related peptides. *Growth Hormone & IGF Res;* 2007.
25. Lu X, Shi Z, Murphy LJ. Growth hormone suppression of insulin-like growth factor binding protein-1 promoter activity. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;149:19-28.
26. Paasilta M, Karjalainen A, Kervinen K, Savolainen MJ, Heikkinen J, Backstrom AC, et al. Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and IGF-1 during oral and transdermal estrogen replacement therapy: relation to lipoprotein(a) levels. *Atherosclerosis.* 2000;149(1):157-62.
27. Karjalainen A, Paasilta M, Heikkinen J, Backstrom AC, Savolainen M, Kesaniemi YA. Effects of peroral and transdermal oestrogen replacement therapy on glucose and insulin metabolism. *Clin Endocrinol.* 2001;54(2):165-73.
28. Ravn P, Overgaard K, Spencer EM, Christiansen C. Insulin-like growth factors I and II in healthy women with and without established osteoporosis. *Eur J Endocrinol.* 1995;132(3):313-9.
29. Garnero P, Tsouderos Y, Marton I, Pelissier C, Varin C, Delmas PD. Effects of intranasal 17 β -estradiol on bone turnover and serum insulin-like growth factor I in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(7):2390-7.

30. Edén S, Wiklund O, Oscarsson J, Rosén T, Bengtsson BA. Growth hormone treatment of growth hormone-deficient adults results in a marked increase in Lp(a) and HDL cholesterol concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1993;13:296-301.
31. Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE. Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1981;240(6):E630-9.
32. Lee PD, Giudice LC, Conover CA, Powell DR. Insulin-like growth factor binding protein-1: Recent findings and new directions. *Proc Soc Exp Biol Res* 1997; 204:4-29.
33. Baxter RC. Circulation binding proteins for the insulin-like growth factors. *Trends Endocrinol Metab.* 1993;4:91-6.
34. Lewitt MS, Denyer GS, Cooney GJ, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-1 modulates blood glucose levels. *Endocrinology.* 1991;129(4):2254-6.
35. Diel P, Walter A, Fritzemeier KH, Hegele-Hartung C, Knauthe R. Identification of estrogen regulated genes in Fe33 rat hepatoma cells by differential display polymerase chain reaction and their hormonal regulation in rat liver and uterus. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;55:363-73.
36. Mozzanega B, Babbo GL, Salmaso L, De Toni R, Schiavo A, Mioni R, et al. Oral 17beta-estradiol and sequential progesterone in menopause: effects on insulin-like growth factors and their binding proteins. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23(1):50-7.
37. Heald AH, Cruickshank JK, Riste LK, Cade JE, Anderson S, Greenhalgh A, et al. Close relation of fasting insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) with glucose tolerance and cardiovascular risk in two populations. *Diabetologia.* 2001;44(3):333-9.

38. Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, Grobbee DE, Lamberts SW. Serum total IGF-I, free IGF-I, and IGFBP-1 levels in an elderly population: relation to cardiovascular risk factors and disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(2):277-82.
39. Heald AH, Siddals KW, Fraser W, Taylor W, Kaushal K, Morris J, et al. Low circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) are closely associated with the presence of macrovascular disease and hypertension in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002;51(8):2629-36.
40. Kaushal K, Heald AH, Siddals KW, Sandhu MS, Dunger DB, Gibson JM, et al. The impact of abnormalities in IGF and inflammatory systems on the metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 2004;27(11):2682-8.

Table 1 - Characteristics of the sample at study outset

Characteristics	n = 11
Age (years) *	36.1 ± 10.2
Skin color **	
White	10 (90.9)
Black	1 (9.1)
Weight (Kg) *	59.7 ± 10.4
Height (m) *	1.55 ± 0.04
BMI (Kg/m ²)*	24.7 ± 3.9
WHR *	0.95 ± 0.04

WHR: waist-hip ratio.

* Mean ± standard deviation

** n (%)

Table 2 - Clinical characteristics of the women with hypopituitarism

Clinical characteristics	n = 11
N° of hormone deficiencies **	
Gonadotropic	11 (100%)
Thyrotropic	8 (72.7%)
Somatotropic	11 (100%)
Corticotropic	9 (81.8%)
Causes of hypopituitarism **	
Cushing's disease	6 (54.5)
Craniopharyngioma	2 (18.2)
Dysgerminoma	1 (9.1)
Empty sella	1 (9.1)
Sheehan's syndrome	1 (9.1)
Surgery **	9 (81.8)
Radiotherapy **	2 (18.2)
Test **	
Glucagon	6 (54.5)
Insulin-induced hypoglycemia	5 (45.5)
Time using GH (months) *	7 (2-19)

* Median (minimum-maximum)

** n (%)

Table 3 - Comparison between administration routes at study outset

Variables	Oral route	Transdermal Route	p
	(n = 6)	(n = 5)	
Weight (kg) *	60.8 ± 14.2	58.4 ± 3.6	0.724***
Height (m) *	1.56 ± 0.03	1.55 ± 0.05	0.908***
BMI (kg/m ²) *	24.9 ± 5.2	24.2 ± 2.2	0.783***
WHR *	0.97 ± 0.05	0.94 ± 0.04	0.285***
Systolic BP (mmHg) *	115.5 ± 13.8	123.7 ± 20.9	0.459***
Diastolic BP (mmHg) *	76.9 ± 12.8	83.3 ± 13.9	0.452***
HR (bpm) *	81.3 ± 11.8	75.2 ± 11.4	0.405***
Endometrial thickness (cm) **	0.2 (0.1-0.8)	0.3 (0.1-0.4)	0.931****
Estradiol (pg/mL) **	10.1 (5-54.7)	12.7 (7.4-33.4)	0.662****
IGF1 (ng/mL) **	195.6 (40.7-461.5)	166.5 (148.8-340.4)	0.662****
IGFBP3 (ng/mL) **	3480 (1370-5376)	2877 (2140-4730)	0.662****
IGFBP1 (ng/mL) **	14.9 (5.0-56.2)	29.9 (5.0-49.7)	0.537***
Glucose (mg/mL) *	96.5 ± 9.9	84.8 ± 10.7	0.092****
Insulin (μUI/mL) **	11.9 (2.1-23.1)	3.10 (2.7-24.3)	0.429***
C-peptide (ng/mL) *	1.52 ± 0.80	1.58 ± 0.85	0.904****
HOMA **	5.22 (4.72-6.10)	4.38 (4.22-5.55)	0.126***
Total cholesterol (mg/dL) *	222.0 ± 27.5	235.8 ± 70.6	0.698***
HDL (mg/dL) *	54.0 ± 19.3	61.4 ± 13.0	0.486***
LDL (mg/dL) *	188.4 ± 53.1	157.5 ± 80.5	0.464***
Triglycerides (mg/dL) *	231.2 ± 116.1	192.0 ± 178.4	0.671***

US C reactive protein (mg/L) **	6.83 (0.54-8.62)	3.16 (1.31-7.31)	0.247****
Time on GH (months) **	7.5 (3-19)	7.0 (2-12)	0.537****
Dose of GH (UI/day) **	0.5 (0.25-0.50)	0.5 (0.25-1.00)	0.792****

* Mean \pm standard deviation

** Median (minimum – maximum)

*** Value calculated with Student's t test

**** Value calculated with the Mann-Whitney test

Table 4 - Comparison between study phases, by route of administration

Variables	Oral route (n = 6)			Transdermal route (n = 5)		
	Baseline	After 3 months	p	Baseline	After 3 months	p
Weight (kg) *	60.8±14.2	61.7±15.4	0.280***	58.4±3.6	59.1±5.0	0.581***
BMI (kg/m ²) *	25.0±5.2	25.4±5.7	0.272***	24.3±2.3	24.6±2.7	0.593***
WHR *	0.97±0.05	0.96±0.05	0.576***	0.94±0.04	0.94±0.04	0.374***
Systolic BP (mmHg) *	115.6±13.8	118.2±20.5	0.567***	123.7±20.9	121.3±15.7	0.711***
Diastolic BP (mmHg) *	77.0±12.8	78.9±14.1	0.619***	83.3±13.9	86.6±11.8	0.333***
HR (bpm) *	81.3±11.8	74.0±9.0	0.202***	75.2±11.4	75.6±8.0	0.914***
Endometrial thickness (cm) **	0.2 (0.1-0.8)	0.9 (0.3-1.5)	0.027****	0.3 (0.1-0.4)	0.6 (0.2-0.8)	0.042****
Estradiol (pg/mL) **	10.1 (5-54.7)	133.9 (7.4-197.9)	0.046****	12.7 (7.4-33.4)	36.1 (17.4-84.4)	0.043****
IGF1 (ng/mL) **	195.6 (40.7-461.5)	91.3 (34.1-203.9)	0.046****	166.5 (148.8-340.4)	122.3 (101.9-339.2)	0.500****
IGFBP3 (ng/mL) **	3480 (1370-5376)	2790 (1530-6330)	0.463****	2877 (2140-4730)	3600 (2830-3790)	0.500****
IGFBP1 (ng/mL) **	14.9 (5.0-56.2)	40.6 (7.9-62.2)	0.028****	29.9 (5.0-49.7)	12.2 (5-41.1)	0.144****
Glucose (mg/mL) *	96.5 ± 9.9	89.0 ± 7.5	0.124***	84.8 ± 10.7	84.0 ± 6.4	0.830***

Insulin (μ UI/mL) **	11.9 (2.1-23.1)	10.2 (1.8-32.5)	0.893****	3.10 (2.7-24.3)	5.79 (2.82-10.9)	0.686****
C-peptide (ng/mL) *	1.5 \pm 0.8	2.0 \pm 1.4	0.385***	1.6 \pm 0.9	1.2 \pm 0.5	0.401***
HOMA **	5.22 (4.72-6.10)	5.04 (4.22-5.38)	0.116****	4.38 (4.22-5.55)	4.49 (4.44-5.27)	0.893****
Total cholesterol (mg/dL) *	222 \pm 27.5	239.3 \pm 36.4	0.280***	235.8 \pm 70.6	224.0 \pm 71.1	0.083***
HDL (mg/dL) *	54.0 \pm 19.3	68.7 \pm 24.0	0.003 ***	61.4 \pm 13.0	61.4 \pm 19.7	1.000***
LDL (mg/dL)	188.4 \pm 53.1	177.4 \pm 56.0	0.531***	157.5 \pm 80.5	152.5 \pm 68.2	0.428***
Triglycerides (mg/dL) *	231.2 \pm 116.1	243.2 \pm 124.2	0.679***	192.0 \pm 178.5	159.4 \pm 119.6	0.300***
US C reactive protein (mg/L) **	6.8 (0.5-8.6)	5.0 (1.5-10.3)	0.917****	3.2 (1.3-7.3)	1.1 (0.6-5.5)	0.043 ****

* Mean \pm standard deviation

** Median (minimum – maximum)

*** Value calculated with Student's *t* test for paired samples

**** Value calculated with the Wilcoxon test

Table 5 - Comparison between groups in terms of variation of 3rd month values from baseline

Variables	Variation of 3rd month values from baseline			
	Oral route	Transdermal route	95%CI	p***
	Mean \pm SD	Mean \pm SD		
BMI (kg/m ²) *	0.37 \pm 0.74	0.30 \pm 1.17	0.07 (-1.24-1.38)	0.909
WHR *	-0.003 \pm 0.01	0.006 \pm 0.01	-0.009 (-0.03-0.009)	0.285
Systolic BP (mmHg) *	2.7 \pm 10.7	-2.3 \pm 13.1	5.0 (-11.2-21.2)	0.502
Diastolic BP (mmHg) *	1.9 \pm 8.7	3.3 \pm 6.8	-1.4 (-12.3-9.4)	0.770
HR (bpm) *	-7.3 \pm 12.2	0.4 \pm 7.8	-7.7 (-22.1-6.7)	0.255
Endometrial thickness (cm) **	0.62 \pm 0.43	0.26 \pm 0.18	0.36 (-0.11-0.83)	0.120
Estradiol (pg/mL) **	96.9 \pm 68.1	24.9 \pm 17.0	72 (0.72-143.2)	0.048
IGF1 (ng/mL) **	-132.8 \pm 122.1	-14.4 \pm 67.3	-118.4 (-257.4-20.6)	0.086
IGFBP3 (ng/mL) **	-293.5 \pm 904.4	152.6 \pm 752.9	-446.1 (-1597.4-705.2)	0.404
IGFBP1 (ng/mL) **	17.2 \pm 15.0	-8.7 \pm 14.9	25.9 (5.4-46.4)	0.019
Glucose (mg/mL) *	-7.5 \pm 9.9	-0.8 \pm 7.8	-6.7 (-19.1-5.7)	0.252

Insulin (μ UI/mL) **	0.92 \pm 7.7	-0.79 \pm 7.3	1.71 (-8.6-12.0)	0.717
C-peptide (ng/mL) *	0.46 \pm 1.19	-0.34 \pm 0.82	0.8 (-0.62-2.2)	0.233
HOMA **	-0.42 \pm 0.55	-0.04 \pm 0.43	-0.38 (-1.06-0.31)	0.249
Total cholesterol (mg/dL) *	17.3 \pm 35.1	-11.8 \pm 11.5	29.1 (-8.2-66.4)	0.111
HDL (mg/dL) *	14.7 \pm 6.7	0.0 \pm 8.9	14.7 (4.0-25.3)	0.012
LDL (mg/dL) *	-11.0 \pm 40.0	-5.0 \pm 12.7	-6.0 (-48.4-36.4)	0.757
Triglycerides (mg/dL) *	12.0 \pm 67.0	-32.6 \pm 61.2	44.6 (-43.8-133)	0.283
US C reactive protein (mg/L) **	-0.38 \pm 2.7	-1.67 \pm 0.96	1.29 (-1.6-4.2)	0.344

* Mean \pm standard deviation

** Median (minimum – maximum)

*** Value calculated with Student's *t* test for independent samples

Table 6 - Correlations between study variables and IGF1 and its binding proteins, by group

Variables	Variation of 3rd month values from baseline		
	Insulin	Glucose	HOMA
Oral (variation of 3rd month values from baseline)			
IGF1	0.434	-0.686	-0.682
IGFBP1	-0.815*	0.063	0.060
IGFBP3	0.189	0.305	0.302
Transdermal (variation of 3rd month values from baseline)			
IGF1	0.562	0.193	0.195
IGFBP1	-0.496	-0.052	-0.051
IGFBP3	0.221	-0.333	0.336

* p < 0.05

Figure legends:

Figure 1 - Analysis of IGF-1 before and after use of estrogen according to route of administration. The box represents the interquartile range (p25-p75); the median is represented as a line within the box; the upper and lower lines on the graph represent extreme observations, which are at a distance of 1.5 times the interquartile range. Values that pass these limits are considered extreme and defined as outliers.

Figure 2 - Analysis of IGFBP-3 before and after use of estrogen according to route of administration. The box represents the interquartile range (p25-p75); the median is represented as a line within the box; the upper and lower lines on the graph represent extreme observations, which are at a distance of 1.5 times the interquartile range. Values that pass these limits are considered extreme and defined as outliers.

Figure 3 - Analysis of IGFBP-1 before and after use of estrogen according to route of administration. The box represents the interquartile range (p25-p75); the median is represented as a line within the box; the upper and lower lines on the graph represent extreme observations, which are at a distance of 1.5 times the interquartile range. Values that pass these limits are considered extreme and defined as outliers.

Figure 4 - Relationship between variation in insulin and IGFBP-1 from 3rd month to baseline in the oral group

Figure 1

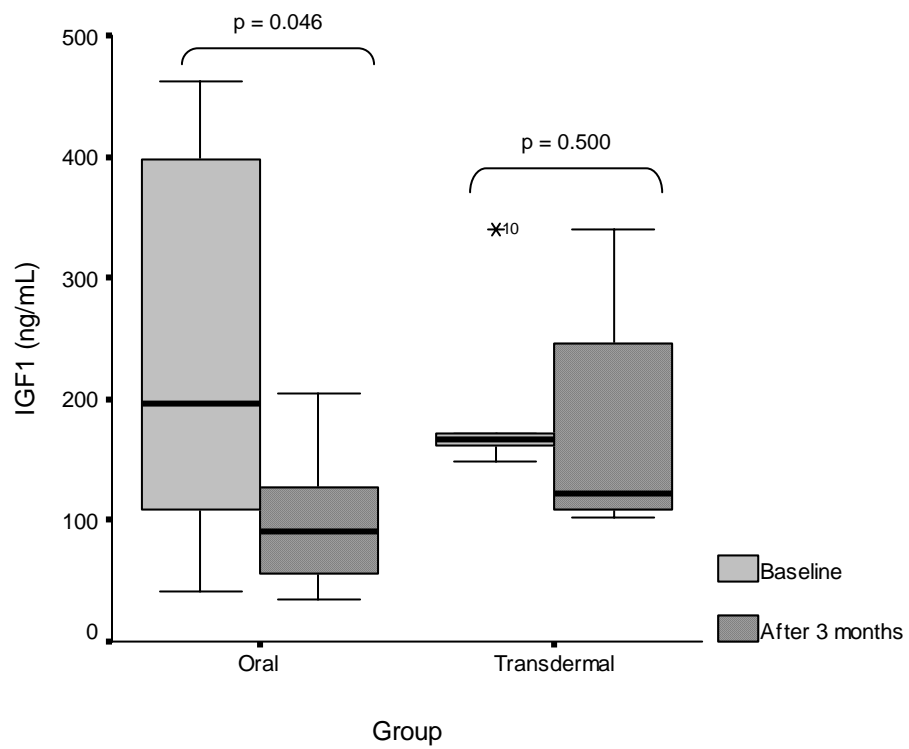


Figure 2

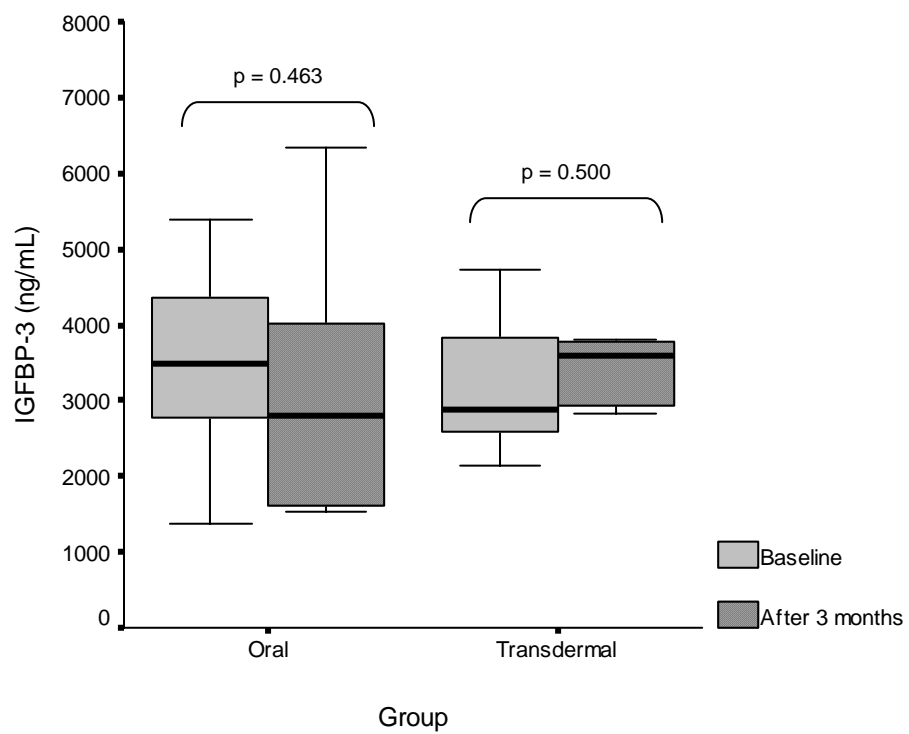


Figure 3

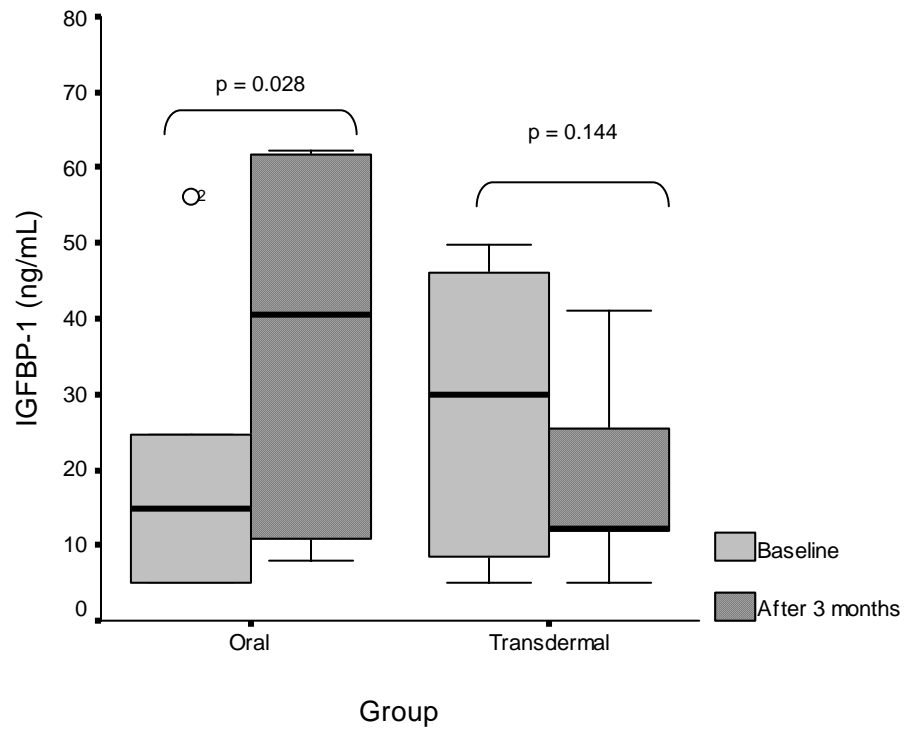


Figure 4

