

THYCIARA FONTENELE MARQUES

AVALIAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-
ADRENAL MEDIDA POR CORTISOL SALIVAR EM
MULHERES NA PÓS-MENOPAUSA INICIAL: EFEITO DA
REPOSIÇÃO HORMONAL

Dissertação apresentada à banca examinadora do curso de Mestrado em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, como exigência para obtenção do Título de Mestre, sob a orientação do Prof. Dr. **Hildo Azevedo** e co-orientação do Prof. Dr. **Francisco Bandeira**.

Recife – PE
2012

Marques, Thyciara Fontenele

Avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal medida por cortisol salivar em mulheres na pós-menopausa inicial: efeito da reposição hormonal / Thyciara Fontenele Marques. – Recife: O Autor, 2012.

60 folhas: il.; fig.; 30 cm

Orientador: Hildo Azevedo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, 2012.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Menopausa. 2. Cortisol salivar. 3. Síndrome metabólica. 4. Hiper cortisolismo. I. Azevedo, Hildo. II. Título.

612.804 2

CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2012-041

FOLHA DE APROVAÇÃO

Thyciara Fontenele Marques

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Fátima Fontenele, por toda a luta e incentivo para que eu pudesse realizar meus sonhos profissionais.

A minha segunda mãe, Lúcia Ferreira, pelo carinho, dedicação incondicional e torcida calorosa.

Aos meus irmãos, Thiago, Thycianno e Thiarley, pela amizade e apoio em todos os momentos da minha vida.

Aos meus avós, tão importantes na formação do meu caráter, agradeço por toda a sabedoria.

Ao meu irmão de alma, Erik Trovão, por ser o meu eterno exemplo de honestidade, caráter e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Hildo Azevedo, pela orientação.

Ao Prof. Dr. Francisco Bandeira, pela confiança, incentivo e exemplo de dedicação e contribuição à ciência.

Aos Prof. Miguel Arcanjo e Maria Lúcia Gurgel por provarem que há ensinamentos tão valiosos e importantes que não estão escritos em livros ou artigos científicos.

A Dra. Iara Coelho, aos colegas de mestrado e a Dalva, técnica em laboratório, sem os quais a realização deste trabalho não teria sido possível.

Ao Dr. Luiz Griz, pelo exemplo profissional e humano que sempre mostrou ser.

Aos amigos Dra. Daniela Rêgo e Dr. Gustavo Caldas, pelos conselhos e pelo exemplo.

Aos queridos amigos, Dra. Susyane Ribeiro, Dra. Estela Carvalho, Dra. Lara Voss, Dra. Luena Dias, Dr. Fernando Gondim e Dra. Daniella Fontan, por toda ajuda durante a realização deste trabalho.

A acadêmica de Medicina, Marília Mendes, por toda dedicação demonstrada durante a coleta de dados.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, através do cortisol salivar da meia-noite, e sua relação com parâmetros clínicos e laboratoriais em mulheres na pós-menopausa inicial, antes e após seis meses do uso da terapia hormonal (TH). **Métodos:** Ensaio clínico aberto realizado em mulheres nos primeiros cinco anos de menopausa com indicação para o uso da TH. Foram avaliados os níveis pressóricos, a medida da circunferência abdominal (CA), o índice de massa corpórea (IMC), perfil lipídico, perfil glicêmico e dosagem do cortisol salivar da meia-noite antes e após seis meses de uso diário de 17- β -estradiol 1g e drospirenona 2mg. **Resultados:** Dezenove pacientes concluíram o estudo. Observamos um declínio dos níveis de cortisol salivar ao longo do tratamento, porém, sem relevância estatística ($p=0,488$). A medida da CA apresentou redução significativa (90,21 cm vs 88,53 cm) com $p=0,011$, dado não observado com a média do IMC (27,55 kg/m² vs 27,26 kg/m²; $p=0,152$). A média dos níveis de pressão arterial sistólica, colesterol total, glicemia de jejum (GJ) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) apresentaram declínio estatisticamente significativo após os seis meses de tratamento. Houve uma correlação entre os níveis de cortisol e pressão arterial sistólica, diastólica e GJ, antes do uso da TH, que não se manteve após o período de tratamento. **Conclusão:** O uso da TH por seis meses não foi capaz de promover alteração nos níveis de cortisol salivar à meia noite, mas foi responsável por uma redução significativa na CA, pressão arterial sistólica, níveis de LDL e GJ.

DESCRITORES: menopausa, cortisol salivar, síndrome metabólica, hipercortisolismo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the function of hypothalamo-pituitary-adrenal axis, through the midnight salivary cortisol, and its relation with clinical and laboratory parameters in initial postmenopausal women, six months before and after the use of hormone therapy (HT). **Methods:** Open clinical trial conducted on women in their first five years of menopause with indication for the use of HT. It was evaluated the blood pressure levels, measurement of waist circumference (WC), the body mass index (BMI), lipid profile, glycemic profile and the midnight salivary cortisol dosage six months before and after the daily use of 17- β -estradiol 1g and drospirenone 2mg. **Results:** Nineteen patients completed the study. It was observed a decrease in the average salivary cortisol levels during treatment, but without statistical significance ($p=0.488$). The WC measurement showed a significant reduction (90.21 cm vs 88.53 cm) with $p=0.011$, same result was not observed with the BMI average (27.55 kg/m² vs 27.26 kg/m²; $p=0.152$). The average levels of systolic blood pressure, total cholesterol, fasting plasma glucose (FPG) and low density lipoprotein (LDL) showed statistically significant decrease after six months of treatment. There was a correlation between the cortisol levels and systolic, diastolic blood pressure and FPG, before the use of HT, which is not maintained after the treatment period. **Conclusion:** The use of HT for six months was not able to decrease the levels of midnight salivary cortisol, but was responsible for a significant reduction of WC, systolic blood pressure, LDL levels and FPG.

KEYWORDS: menopause, salivary cortisol, metabolic syndrome, hypercortisolism.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1	Processo de seleção dos estudos.	30
Tabela 1	Estudos selecionados: localização, desenho do estudo, número de participantes, pontuação, qualidade, características e variáveis primárias.	31
Tabela 1	Características basais dos 19 participantes do estudo.	55
Tabela 2	Estatísticas dos dados antropométricos e laboratoriais por tempo de avaliação.	56
Tabela 3	Correlação de Spearman dos níveis de cortisol entre os dados antropométricos e laboratoriais por avaliação.	57

LISTA DE ABREVIATURAS

Circunferência abdominal (CA)

Colesterol total (CT)

Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT)

Doença cardiovascular (DCV)

Escala de Newcastle-Ottawa (NOS)

Glicemia de jejum (GJ)

Hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA)

Hipotálamo-hipófise-ovário (HHO)

Hormônio adrenocorticotropico (ACTH)

Hormônio do crescimento (GH)

Hormônio folículo estimulante (FSH)

Hormônio liberador da corticotropina (CRH)

Índice de massa corpórea (IMC)

International Diabetes Federation (IDF)

Lipoproteína de alta densidade (HDL)

Lipoproteína de baixa densidade (LDL)

Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)

Pressão arterial diastólica (PAD)

Pressão arterial sistólica (PAS)

Síndrome metabólica (SM)

Terapia hormonal (TH)

Triglicerídeos (TG)

Sumário

1. Apresentação.....	11
2. Revisão	
Sistemática.....	12
Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução	15
Pacientes e Métodos	16
Resultados	17
Discussão	21
Referências Bibliográficas	25
3. Métodos	32
4. Resultados - Artigo Original	36
Resumo	37
Abstract	38

Introdução	39
Métodos	40
Resultados	43
Discussão	45
Referências Bibliográficas	49
5. Considerações Finais	58
6. Anexos	59

1. Apresentação

Sob controle do hipotálamo, a hipófise exerce papel central na integração de diversos sistemas regulatórios do organismo. Um dos hormônios produzidos por ela, o hormônio adrenocorticotropico (ACTH), atua sobre as adrenais, que são responsáveis pela síntese, entre outros, do cortisol, hormônio essencial para o crescimento e desenvolvimento, reprodução, metabolismo, adaptação do organismo às alterações do ambiente externo e ao estresse.

Há uma hipótese que o período menopausal esteja relacionado ao estado de hipercortisolismo, mesmo subclínico, e com todas as conseqüências deste estado. Nosso trabalho objetivou testar esta hipótese e avaliar os parâmetros da síndrome metabólica na menopausa inicial, antes e após o uso da terapia hormonal.

O objetivo geral foi avaliar a função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, através da medida do cortisol salivar da meia-noite, e parâmetros clínicos e laboratoriais, em mulheres na pós-menopausa inicial, antes e após a terapia hormonal (TH). Os objetivos específicos foram: comparar as medidas do cortisol salivar em mulheres na pós-menopausa, antes e 6 meses após a TH, comparar os parâmetros da síndrome metabólica antes e 6 meses após a TH e correlacionar estes parâmetros com os níveis de cortisol na saliva.

2. Revisão Sistemática

O efeito da menopausa sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal: um estado de hipercortisolismo?

The effect of the menopause on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: a state of hypercortisolism?

Marques TF¹, Diniz ET¹, Coelho IM², Bandeira F¹, Azevedo H³

1. Departamento de Endocrinologia e Diabetes, Hospital Agamenon Magalhães - (MS/SUS) - Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.
2. Ambulatório de Endocrinologia Ginecológica, Hospital Agamenon Magalhães - (MS/SUS) - Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.
3. Departamento de Neurocirurgia – Hospital da Restauração – (MS/SUS) - Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.

Correspondência para:

Thyciara Fontenele Marques

Rua Desembargador Góis Cavalcanti, 100, Parnamirim, 52060-140, Recife – PE

E-mail: thyciarafontenele@hotmail.com

Resumo

A integração dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e hipotálamo-hipófise-ovário (HHO) já é bem definida, porém o funcionamento do eixo HHA ainda não é bem compreendido durante a transição menopausal e a menopausa inicial, um tempo de imensas mudanças no eixo HHO. Esta revisão sistemática objetivou avaliar o efeito da menopausa sobre o eixo HHA medido através de dosagens do cortisol. Após uma busca nos bancos de dados PubMed e Cochrane Library, de 712 referências encontradas, sete estudos permaneceram para esta revisão. A escassez de estudos e suas limitações metodológicas impossibilitaram a conclusão de que a menopausa seria capaz de gerar um estado de hipercortisolismo e suas conseqüências, bem como a hipótese de que o uso da terapia hormonal pudesse reverter este estado.

DESCRITORES: menopausa, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, eixo hipotálamo-hipófise-ovário, hipercortisolismo.

Abstract

The integration of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HHA) and hypothalamic-pituitary-ovarian (HHO) axis is already well-established, although the functioning of the HHA axis is still not fully understood during the menopausal transition and the onset of menopause, which is a time of enormous changes in the HHO axis. The aim of this systematic review is to evaluate the effect of the menopause on the HHA axis, as measured using cortisol. A search of the PubMed and Cochrane Library databases found 712 references, 7 of which were included in this review. The paucity of studies and their methodological limitations make it impossible to draw the conclusion that the menopause is capable of generating a state of hypercortisolism and its consequences, or to confirm the hypothesis that the use of hormone replacement therapy may reverse this.

DESCRIPTORS: menopause, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, hypothalamic-pituitary-ovarian axis, hypercortisolism.

Introdução

Já é bem documentada a integração entre os eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e hipotálamo-hipófise-ovário (HHO) em resposta ao estresse, porém pouca atenção tem sido dedicada às alterações no eixo HHA durante o período menopausal (1-5).

A perimenopausa e a menopausa inicial representam um período crítico na vida da mulher, caracterizado por mudanças profundas na função ovariana. Quando as mulheres se aproximam da menopausa, caracteristicamente, ocorre um aumento na concentração do hormônio folículo estimulante (FSH) que atua sobre os folículos ovarianos estimulando-os a produzir estradiol, conseqüentemente, na menopausa inicial, ocorrem picos deste hormônio. Estas concentrações elevadas e oscilantes do estradiol parecem regular a expressão de genes humanos do hormônio liberador da corticotropina (CRH), resultando em níveis elevados do cortisol (6-8).

Esta fase é marcada pelo surgimento dos sintomas vasomotores, alterações psicológicas, modificações no peso e composição corporal e alterações metabólicas que conferem um maior risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (9-11).

Até o momento, escassos estudos descreveram a ativação do eixo HHA durante a menopausa, indicada pelo aumento nos níveis livres do cortisol neste período. Neste contexto, realizamos uma revisão sistemática da literatura científica para avaliar a associação entre menopausa e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Materiais e Métodos

Nós utilizamos o PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) como referência de protocolo para desenvolver esta revisão sistemática.

A fim de encontrar todos os trabalhos publicados relacionados ao tema, realizamos um levantamento bibliográfico de janeiro de 1980 a novembro de 2011 nas bases de dados PubMed e Cochrane Library, por meio das seguintes palavras-chaves: “hypercortisolism AND menopause” [Mesh], “hypercortisolism AND menopause” [Title/Abstract], “cortisol AND menopause” [Mesh], “cortisol AND menopause” [Title/Abstract], “menopause AND activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal” [Mesh], “menopause AND activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal” [Title/Abstract], “menopause AND hypothalamic-pituitary-adrenal” [Mesh] e “menopause AND hypothalamic-pituitary-adrenal” [Title/Abstract].

Os seguintes critérios de inclusão foram considerados: estudos em humanos controlados e randomizados, ensaios clínicos abertos, coorte e caso-controle envolvendo a avaliação dos níveis de cortisol em mulheres na menopausa. Foram excluídos artigos de revisão, “relatos de caso”, série de casos, metanálises, artigos em duplicata, publicados em outras línguas que não fosse o inglês e que não estivessem disponíveis para análise integral.

Dois revisores independentes trabalharam selecionando inicialmente estudos pelo título e resumo para determinar se eles satisfaziam os critérios de seleção. Qualquer desacordo foi resolvido através de um consenso ou pela opinião de um terceiro revisor. Artigos com o texto completo foram selecionados a partir do título e resumo.

A qualidade dos estudos foi avaliada pelos dois revisores, também em caráter independente, e as discordâncias foram resolvidas por consenso ou pela análise do terceiro revisor. Utilizamos uma adaptação da Escala de *Newcastle-Ottawa* (NOS) para avaliar a qualidade dos estudos não-randomizados e a *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) para ensaio clínico randomizado (12,13). Nossa escala modificada aplicou uma pontuação variando de 0-6 pontos (0 para baixa qualidade do estudo e 6 para alta qualidade do estudo). Um ponto foi alocado para cada um dos seguintes itens: a) justificativa adequada dada para o trabalho, b) critérios de inclusão e exclusão aplicados apropriadamente, c) diagnóstico de menopausa confirmado laboratorialmente, d) dosagem do cortisol biologicamente ativo, e) ajuste realizado para fatores estressores, tabagismo, consumo de café, uso de corticóide e consumo de álcool, f) qualquer outro fator de ajuste realizado.

Para resumir a validade dos estudos utilizamos uma abordagem simples e adaptada do *Cochrane Collaboration* (14). Os estudos foram classificados em três categorias: alta qualidade (baixo risco de viés), média qualidade (risco moderado de viés) ou baixa qualidade (alto risco de viés). Os resultados estão demonstrados na tabela 1.

Resultados

Inicialmente foram identificadas 712 referências. Entre os bancos de dados eletrônicos, a maior parte foi proveniente do PUBMED, com 659 citações. Das 712 referências, 162 estavam duplicadas e conseqüentemente foram excluídas. Após verificação do título e resumo, 534 artigos foram excluídos por não responderem à

pergunta condutora, restando 16 artigos para avaliação de textos completos. A análise destes levou a inclusão de 7 artigos para nossa avaliação final (figura 1). A tabela 1 mostra as características dos 7 estudos selecionados, nos quais participaram um total de 316 indivíduos (15-21).

Menopausa e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

Woods e colaboradores demonstraram um aumento nos níveis de cortisol em mulheres na fase inicial da menopausa. O estudo promovido por este grupo contou com a participação de 91 mulheres na menopausa inicial que foram submetidas à coleta mensal, durante 12 meses, de cortisol em uma amostra matinal de urina. Os níveis urinários do cortisol apresentaram elevação apenas entre os sétimo e décimo segundo meses do estudo. Sessenta e oito por cento das mulheres experimentaram um aumento do cortisol urinário superior a 10 ng/mg de creatinina, enquanto apenas 8% experimentaram uma diminuição destes níveis (15).

Mais recentemente, Cagnacii e colaboradores publicaram dados de 85 mulheres na menopausa inicial, sugerindo um estado de hipercortisolismo através da dosagem de cortisol urinário de 24 horas (75.6 ± 55.0 , em $\mu\text{g}/24\text{h}$), bem como uma relação positiva entre estes níveis e parâmetros da síndrome metabólica como a medida da circunferência abdominal ($r = 0.237$; $p = 0.003$) e resistência à insulina ($r = 0.377$; $p = 0.0004$). A dosagem do cortisol em urina de 24 horas não esteve relacionada com os níveis de colesterol total, triglicerídeos ou glicose. Em contrapartida, foi inversamente relacionada com a lipoproteína de alta densidade (HDL) ($r = 0.283$, $p = 0.009$) (16).

Kalleinen e colaboradores estudaram os perfis de 24 horas do hormônio do crescimento (GH), prolactina e cortisol em 18 mulheres na pós-menopausa, com idades variando de 58-70 anos, antes e após seis meses do início da terapia hormonal (TH) e compararam a um grupo controle composto por 17 mulheres na pré-menopausa, com idades entre 45-51 anos. As dosagens hormonais foram obtidas pela coleta de sangue de 20 em 20 minutos durante 24 horas (17).

No grupo das mulheres na pré-menopausa nove utilizaram valerato de estradiol 2mg por 16 dias e valerato de estradiol 2mg com 1mg de noretisterona nos demais dias do ciclo e oito pacientes utilizaram placebo. Já no grupo pós-menopausa nove receberam, em caráter contínuo, valerato de estradiol 2mg e noretisterona 0,7mg e as demais utilizaram placebo. Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis de cortisol basal, entre os grupos pré-menopausa (198,3 +-33,3 nmol/L) e pós-menopausa (206,5 +- 39,2 nmol/L), bem como quando comparados os indivíduos que usaram ou não a terapia hormonal (17).

Gudmundsson e colaboradores tentaram demonstrar o efeito da TH sobre a regulação do ritmo circadiano do cortisol. O grupo estudado era composto por 6 mulheres saudáveis, com faixa etária entre 54 a 61 anos e em menopausa fisiológica por no mínimo 2 anos e no máximo 7 anos. Foi avaliada a dosagem sanguínea do cortisol de 15 em 15 minutos, por 24 horas, antes e 6-8 semanas após o uso 0,625mg de estrógeno conjugados (18).

A concentração média do cortisol de 24 horas aumentou de 10,05 µg / dL para 12,06 µg / dL após o uso da terapia hormonal (p = 0,007). A amplitude circadiana do cortisol aumentou de 20,20 µg / dL para 25,97 µg / dL (p = 0,016), o nível do pico deste hormônio aumentou de 22.85 µg / dL para 29.51 µg / dL (p=0.01), porém o valor do

nadir não sofreu modificação importante, passando de 2.74 µg / dL para 3.68 µg / dL (p= 0.110) (18).

Um único estudo selecionado demonstrou a função adrenal em mulheres jovens em menopausa cirúrgica. De Leo e colaboradores estudaram 9 mulheres, entre 44 e 48 anos, que se submeteram à histerectomia total ou ooforectomia bilateral por doenças ginecológicas benignas. Foram dosados os níveis do hormônio adrenocorticotropico (ACTH) e cortisol em uma amostra de sangue antes e 8 dias após a cirurgia, e em dois momentos: coleta basal e após a infusão de 100 µg do CRH (19).

O nível de ACTH basal antes ($3,1 \pm 0,4$ pmol/l) e após a cirurgia ($2,8 \pm 0,4$ pmol/l) não apresentou diferença estatística relevante, porém sua medida após 45 minutos da infusão de CRH antes e após o procedimento sofreu um incremento quando comparada ao valor basal: após aplicação do CRH houve um aumento do ACTH antes da cirurgia de $7,7 \pm 2,0$ pmol/l em relação ao basal e após a cirurgia de $4,8 \pm 1,0$, com $p < 0,01$. O nível do cortisol basal antes (276 ± 44 nmol/l) e após a ooforectomia (281 ± 49 nmol/l) também não apresentou diferença estatisticamente significativa. Após a aplicação do CRH, o cortisol antes da cirurgia aumentou de 276 nmol/l para 607 ± 71 nmol/l após 45 minutos e caiu para 386 ± 41 nmol/l após 120 minutos. Após a cirurgia, o cortisol passou de 281 nmol/l para 598 ± 85 nmol/l após 45 minutos e 358 ± 60 nmol/l após 120 minutos, porém estes valores não apresentaram relevância estatística (19).

Helgason e colaboradores avaliaram 65 mulheres saudáveis atendidas em um serviço de referência em ginecologia na Suécia. Todas as pacientes tinham diagnóstico de menopausa há no mínimo seis meses. A terapia estrogênica foi prescrita de forma cíclica durante 3 semanas com uma pausa de 1 semana e amostras séricas de cortisol foram obtidas antes, após 1 mês, 3 meses e 6 meses de tratamento. Preparações

diferentes de estrógeno foram utilizadas: etinilestradiol 0,05 mg (14 pacientes), 17- β -estradiol 2mg (12 pacientes), estriol 6mg (14 pacientes) e sulfato de estrona 2,5mg (25 pacientes). O etinilestradiol provocou um aumento acentuado ($p < 0,001$) no cortisol sérico, enquanto uma diminuição ocorreu após o uso de 17- β -estradiol, porém sem significância estatística. As demais preparações tiveram efeito neutro sobre os níveis de cortisol ao longo dos 6 meses de tratamento (20).

Com o objetivo de comparar as alterações induzidas pela terapia hormonal oral versus transdérmica sobre as concentrações do cortisol e de sua globulina de ligação, Shifren e colaboradores avaliaram 25 mulheres em menopausa fisiológica. Foram coletadas amostras de cortisol sérico e de sua globulina em três momentos: basal, após 12 semanas de uso de estrógeno conjugado (0,625mg/dia) com progesterona micronizada (100mg/dia) e 12 semanas após o uso de estradiol transdérmico (0,05mg/dia) com progesterona micronizada (100mg/dia). A média de mudança na porcentagem do cortisol sérico e de sua globulina ligadora com a terapia oral foi de incremento de 29,2% e 18%, respectivamente, em relação ao basal, versus uma redução de 6,7% e 2,2% com o uso de estrógeno transdérmico ($p < 0,003$) (21).

Discussão

O período menopausal é uma fase endócrina complexa que envolve alterações nos níveis de estrógeno, progesterona e FSH. Sabidamente os esteróides sexuais podem afetar a atividade da glândula adrenal. Dados indicam um efeito estimulante do estrógeno na secreção do cortisol através da regulação da expressão de receptores do CRH, por estímulo direto no promotor do gene do CRH e no sistema noradrenérgico

central. As flutuações dos níveis de estradiol, típicas da menopausa inicial, poderiam justificar o achado de hipercortisolismo (22). No entanto, este estado também pode ser explicado pela elevação do cortisol que ocorre tipicamente com a idade, refletindo um aumento na secreção de glicocorticóides adrenais. (23-26).

Os estudos de Woods e Cagnacci sugeriram a associação entre menopausa e o estado de hipercortisolismo (15,16). Uma crítica importante aos estudos foi o uso da dosagem do cortisol urinário, seja através de uma única amostra de urina ou da medida de urina de 24 horas.

Medidas do cortisol são extremamente úteis no diagnóstico do hipercortisolismo, porém, vários fatores podem afetar a concentração do cortisol sérico, em especial a variação da secreção do cortisol ao longo do dia e sua ligação com proteínas transportadoras. O cortisol sérico total representa um somatório de diferentes frações do cortisol circulante. Noventa e cinco por cento deste encontra-se ligado a proteínas, principalmente à globulina de ligação do cortisol e, em menor proporção à albumina. O restante representa bioquimicamente a fração livre ou ativa do hormônio que se encontra em equilíbrio com o cortisol dosado em amostra de urina e na saliva (27-34).

Apesar da excreção de cortisol em urina de 24 horas fornecer um índice direto da secreção do cortisol livre, esta técnica apresenta limitações. Para a obtenção de um resultado válido são necessários: uma coleta completa de urina durante 24 horas, que depende do entendimento e da motivação do paciente, um laboratório confiável, afastar a possibilidade de ingestão excessiva de líquidos que aumenta a taxa de excreção urinária de cortisol e descartar os estados de pseudo-Cushing, que podem revelar resultados falso-positivos, como na depressão e na síndrome dos ovários policísticos, entidades de alta prevalência. (35,36).

Uma alternativa atraente é a utilização da dosagem do cortisol salivar à meia-noite. O cortisol livre difunde-se livremente na saliva, portanto, as medidas de cortisol salivar refletem precisamente as concentrações de cortisol sérico livre (37-43). As amostras de saliva são obtidas por procedimento simples, não invasivo, livre de estresse, podendo ser realizadas por pessoas não treinadas em ambulatório ou na própria residência do paciente. Além disso, as amostras do cortisol salivar são estáveis em temperatura ambiente por uma semana e podem ser transportadas ao laboratório sem nenhuma perda da atividade do cortisol (42).

De Leo e colaboradores, ao estudarem o efeito da ooforectomia bilateral, em mulheres jovens, no perfil de cortisol não evidenciaram mudanças significativas, provavelmente pela utilização de uma amostra matinal do cortisol plasmático, pela análise de um número reduzido de pacientes e pelo curto intervalo de instalação da menopausa (19).

Ao avaliarem o impacto da terapia hormonal oral sobre os níveis de cortisol em mulheres na menopausa, Kalleinen e colaboradores não demonstraram diferenças nas dosagens do cortisol plasmático de 24 horas antes e 6 meses após o uso de valerato de estradiol e noretisterona. Já o grupo de Gudmundsson evidenciou um aumento no cortisol plasmático de 24 horas após 6-8 semanas do uso de estrógeno conjugado, e, por fim, Helgason e colaboradores observaram elevação do cortisol sérico apenas no grupo de mulheres que utilizou o etinilestradiol (17,18,20).

Sabidamente a administração oral de estrógeno com diferentes combinações de progesterona tem importância nas respostas endócrinas (42). Em contraste com a administração transdérmica, o estrógeno oral, através de sua primeira passagem hepática, aumenta a produção de proteínas de ligação, entre elas a proteína de ligação do

cortisol. Isto pode ocasionar um aumento na concentração total do cortisol sem, no entanto, interferir nos níveis livres e biologicamente ativos do hormônio (43). Este fato foi comprovado no trabalho de Shifren e colaboradores quando um grupo de mulheres que utilizou a TH por via oral apresentou um incremento tanto do cortisol total quanto da sua globulina de ligação, enquanto quando via de administração do estrógeno foi a transdérmica houve uma redução nestes valores (21).

Embora a fisiologia possa explicar o excesso de cortisol no período menopausal, há pobreza de estudos científicos que corroborem este fato, especialmente utilizando técnica ultra-sensível para avaliação do cortisol, como a dosagem do cortisol salivar da meia-noite através da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa. Além disso, um questionamento corriqueiro, ainda sem resposta científica, seria se a terapia hormonal poderia restabelecer a funcionalidade do eixo HHA e minimizar os efeitos deletérios do hipercortisolismo, o que traria dados valiosos para a literatura científica atual.

A escassez de estudos e suas limitações metodológicas impossibilitam a conclusão de que a menopausa seria capaz de gerar um estado de hipercortisolismo e suas conseqüências, bem como a hipótese de que o uso da terapia hormonal pudesse reverter este estado. Estudos mais consistentes são necessários para responderem a estes questionamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vitoratos N, Papatheodorou DC, Kalantaridou SN, et al. "Reproductive" corticotropin-releasing hormone. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1092:310-8.
2. Kalantaridou SN, Zoumakis E, Makrigiannakis A. Corticotropin-releasing hormone, stress and human reproduction: an update. *J Reprod Immunol.* 2010;85(1):33-9.
3. Mastorakos G, Pavlatou MG, Mizamtsidi M. The hypothalamic-pituitary-adrenal and the hypothalamic-pituitary-gonadal axes interplay. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2006;3 Suppl 1:172-81.
4. Kalantaridou SN, Makrigiannakis A, Zoumakis E, et al. Stress and the female reproductive system. *J Reprod Immunol.* 2004;62(1-2):61-8.
5. Nakamura K, Sheps S, Arck PC. Stress and reproductive failure: past notions, present insights and future directions. *J Assist Reprod Genet.* 2008;25(2-3):47-62.
6. Burger HG, Hale GE, Dennerstein L, et al. Cycle and hormone changes during perimenopause: the key role of ovarian function. *Menopause.* 2008;15:603-612.
7. Prior JC. Ovarian aging and the perimenopause transition: the paradox of endogenous ovarian stimulation. *Endocrine.* 2005;26:297-300.
8. Santoro N, Brown JR, Adel T, et al. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:1495–501.
9. Freeman EW, Sammel MD, Lin H. Temporal association of hot flashes and depression in the transition to menopause. *Menopause.* 2009;16:728-734.
10. Den Tonkelaar I, Seidell JC, van Noord PA. Obesity and fat distribution in relation to hot flashes. *Maturitas.* 1996;23:301-305.

11. Freedman RR. Pathophysiology and treatment of menopausal hot flashes. *Semin Reprod Med.* 2005;23:117-125.
12. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA.* 2000;283:2008–2012.
13. Wells GA, Shea B, O’Connell D, et al. Newcastle-Ottawa Scale. 2006. <http://www.Iri.ca/programs/ceu/oxford.htm>.
14. Cochrane handbook for systematic reviews of intervention. In: *The Cochrane Library.* 2006; Issue 2. Oxford, UK: Update Software.
15. Woods NF, Carr MC, Tao EY, et al. Increased urinary cortisol levels during the menopausal transition. *Menopause.* 2006;13(2):212-21.
16. Cagnacci A, Cannoletta M, Caretto S, et al. Increased cortisol level: a possible link between climacteric symptoms and cardiovascular risk factors. *Menopause.* 2011;18(3):273-8.
17. Kalleinen N, Polo-Kantola P, Irjala K, et al. 24-hour serum levels of growth hormone, prolactin, and cortisol in pre- and postmenopausal women: the effect of combined estrogen and progestin treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1655-61.
18. Gudmundsson A, Goodman B, Lent S, et al. Effects of estrogen replacement therapy on the circadian rhythms of serum cortisol and body temperature in postmenopausal women. *Exp Gerontol.* 1999;34(6):809-18.
19. De Leo V, la Marca A, Talluri B, et al. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis and adrenal function before and after ovariectomy in premenopausal women. *Eur J Endocrinol.* 1998;138(4):430-5.

20. Helgason S, Carlström K, Damber MG, et al. Effects of various oestrogens on circulating androgens and cortisol during replacement therapy in post-menopausal women. *Maturitas*. 1981;3(3-4):301-8.
21. Shifren JL, Desindes S, McIlwain M, et al. A randomized, open-label, crossover study comparing the effects of oral versus transdermal estrogen therapy on serum androgens, thyroid hormones, and adrenal hormones in naturally menopausal women. *Menopause*. 2007;14(6):985-94.
22. Kirschbaum C, Schommer N, Federenko I, et al. Short-term estradiol treatment enhances pituitary-adrenal axis and sympathetic responses to psychological stress in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:3639-3643.
23. Burger HG, Hale GE, Robertson DM, et al. A review of hormonal changes during the menopausal transition: focus on findings from the Melbourne Women's Midlife Health Project. *Hum Reprod Update*. 2007;13(6):559-65.
24. Harris ID, Santoro N. Endocrinology of the ageing female; the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Minerva Endocrinol*. 2011;36(3):233-42.
25. Yen SS, Laughlin GA. Aging and the adrenal cortex. *Exp Gerontol*. 1998;33(7-8):897-910.
26. Arafah BM. Hypothalamic pituitary adrenal function during critical illness: limitations of current assessment methods. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(10):3725-45.
27. Marik PE, Pastores SM, Annane D. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med*. 2008;36(6):1937-49.

28. Limor R, Tordjman K, Marcus Y, et al. Serum free cortisol as an ancillary tool in the interpretation of the low-dose 1- μ g ACTH test. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;75(3):294-300.
29. Perogamvros I, Kayahara M, Trainer PJ, et al. Serum regulates cortisol bioactivity by corticosteroid-binding globulin dependent and independent mechanisms, as revealed by combined bioassay and physicochemical assay approaches. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011, 21. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04003.x.
30. Perogamvros I, Aarons L, Miller AG, et al. Corticosteroid-binding globulin regulates cortisol pharmacokinetics. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(1):30-6.
31. Sakihara S, Kageyama K, Oki Y. Evaluation of plasma, salivary, and urinary cortisol levels for diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocr J*. 2010;57(4):331-7.
32. Alexandraki KI, Grossman AB. Is urinary free cortisol of value in the diagnosis of Cushing's syndrome? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011;18(4):259-63.
33. Huang W, Kalhorn TF, Baillie M, et al. Determination of free and total cortisol in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ther Drug Monit*. 2007;29(2):215.
34. Corcuff JB, Tabarin A, Rashedi M, et al. Overnight urinary free cortisol determination: a screening test for the diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;48(4):503.
35. Mericq MV, Cutler GB Jr. High fluid intake increases urine free cortisol excretion in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(2):682.
36. Raff H. Utility of salivary cortisol measurements in Cushing's syndrome and adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):3647-55.

37. León-Justel A, Mangas MA, Fontán RI. Budget impact of using midnight salivary cortisol in the diagnosis of hypercortisolism. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2248-53.
38. Munsterhjelm K, Nordell KM, Brunes B, et al. [Physicians defend Scandlab: "Salivary cortisol test can determine adrenal fatigue". *Lakartidningen*. 2011 25-31;108(21):1196-7.
39. Hanneman SK, Cox CD, Green KE, et al. Estimating intra- and inter-assay variability in salivary cortisol. *Biol Res Nurs*. 2011;13(3):243-50.
40. Raff H, Findling JW. Biomarkers: Salivary cortisol or cortisone? *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6(12):658-60.
41. Perogamvros I, Keevil BG, Ray DW, Trainer PJ. Salivary cortisone is a potential biomarker for serum free cortisol. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(11):4951-8.
42. Campagnoli C, Abba C, Ambroggio S, Peris C. Differential effects of progestins on the circulating IGF-I system. *Maturitas*. 2003;46(Suppl 1):S39-S44.
43. Qureshi AC, Bahri A, Breen LA, et al. The influence of the route of oestrogen administration on serum levels of cortisol-binding globulin and total cortisol. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007; 66:632-635.

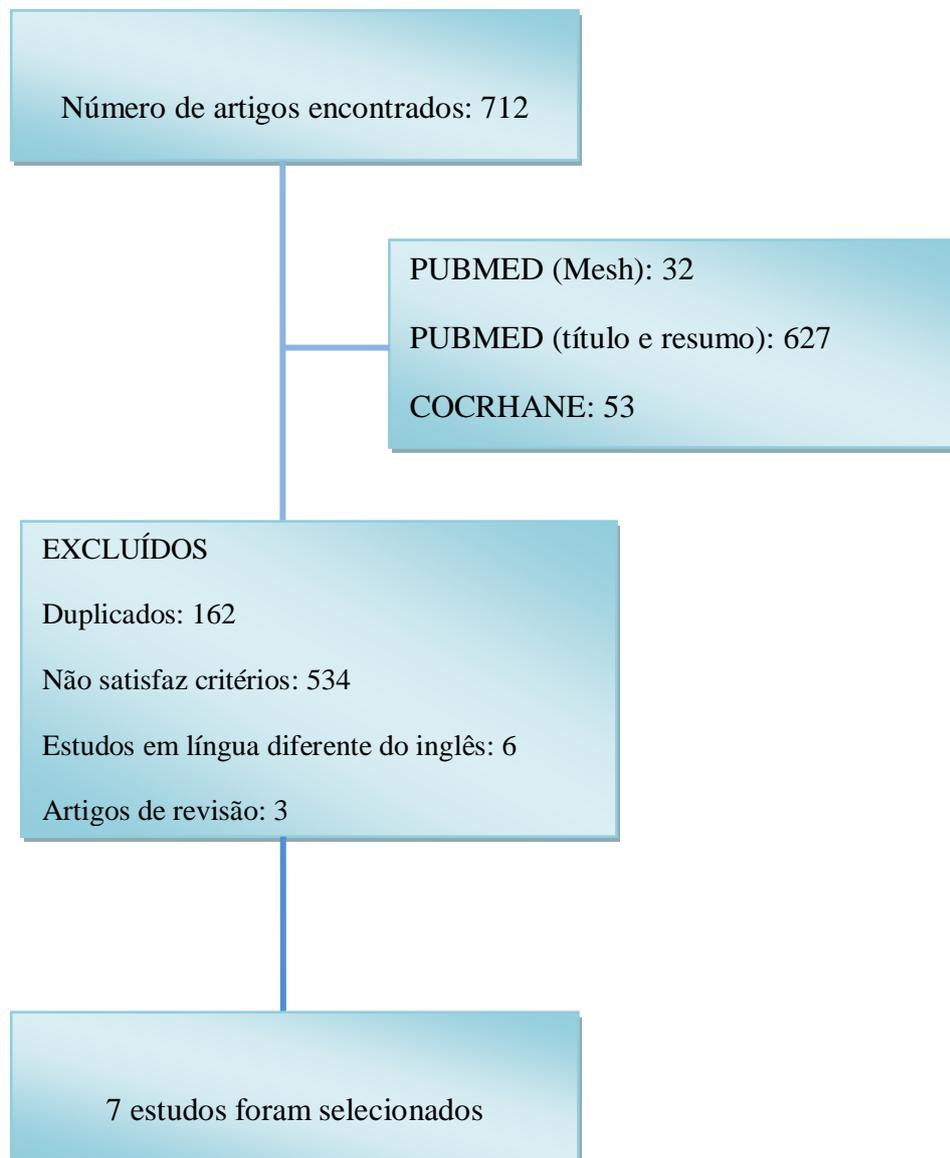


Figura 1. Processo de seleção dos estudos

Tabela 1. Estudos selecionados: localização, desenho do estudo, número de participantes, pontuação, qualidade, características e variáveis primárias.

<i>Estudo</i>	<i>Desenho</i>	<i>N</i>	<i>Pontuação</i>	<i>Qualidade</i>	<i>Características</i>	<i>Variáveis primárias</i>
Helgason et al (1981) Suécia	Ensaio clínico aberto não controlado	65 pacientes	3	média	Mulheres em menopausa fisiológica inicial	Cortisol sérico antes e após terapia hormonal
De Leo et al (1998) Italy	Ensaio clínico aberto não controlado	9 pacientes	3	média	Mulheres em menopausa cirúrgica dos 44 aos 48 anos	ACTH e cortisol antes e após a cirurgia
Gudmundsson et al. (1999) EUA	Ensaio clínico aberto não controlado	6 pacientes	3	média	Mulheres em menopausa fisiológica dos 54 aos 61 anos	Cortisol sérico de 24 horas antes e após uso de estrógeno conjugado
Woods et al (2006) EUA	Coorte	91 pacientes	4	média	Mulheres em menopausa fisiológica inicial e média de 50 anos	Cortisol urinário
Shifren et al (2007) EUA	Ensaio randomizado e controlado	25 paciente	3	média	Mulheres em menopausa fisiológica	Cortisol total e globulina de ligação do cortisol
Kalleinen et al (2008) Finlândia	Ensaio randomizado e controlado	35 pacientes	3	média	Mulheres em menopausa fisiológica entre 58-70 anos	Cortisol urinário de 24 horas antes e após terapia hormonal
Cagnacci et al. (2011) Italy	Coorte	85 pacientes	5	alta	Mulheres em menopausa fisiológica com média de 52 anos	Cortisol urinário de 24 horas, perfil lipídico e medidas antropométricas

ACTH: hormônio adrenocorticotropico

3. Métodos

Este foi um ensaio clínico aberto realizado em conformidade com a Declaração de Helsinke para estudos em humanos, após a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa local. Entre abril de 2010 e maio de 2011, as mulheres atendidas no ambulatório de Climatério do Hospital Agamenom Magalhães, Recife, Brasil, foram convidadas a participar do estudo.

Os seguintes critérios de inclusão foram aplicados: mulheres entre 1 a 5 anos de amenorréia fisiológica, com indicação para o uso de terapia hormonal e níveis do hormônio folículo estimulante (FSH) acima de 30 UI/L. Foram excluídas mulheres acima de 60 anos, histerectomizadas, em uso atual ou prévio de TH, inclusive fitoterápicos, pacientes sabidamente diabéticas, tabagistas, portadoras de doença prévia ou atual do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, em uso de corticóides e drogas neuroativas, portadoras de disfunção cognitiva que impossibilitasse a coleta do cortisol salivar e mulheres com contra-indicação à TH.

A definição de síndrome metabólica foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pela *International Diabetes Federation* (IDF) para mulheres, que envolve a presença obrigatória de obesidade central (circunferência abdominal ≥ 80 cm) associada a dois ou mais dos seguintes componentes: níveis de triglicerídeos (TG) acima de 150 mg/dL ou uso de tratamento específico, lipoproteína de alta densidade (HDL) abaixo de 50 mg/dL ou uso de tratamento específico, hipertensão arterial sistêmica $\geq 130/85$ mmHg ou tratamento de hipertensão previamente diagnosticada e glicemia de jejum (GJ) ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de *diabetes mellitus* tipo 2⁷.

Os seguintes dados do exame físico foram obtidos: peso (kg) e altura (m) para cálculo do índice de massa corpórea (IMC), utilizando a fórmula $\text{peso}/\text{altura}^2$, medida da circunferência abdominal (CA), realizada no plano horizontal, com paciente em pé, na metade da distância entre o rebordo costal inferior e a crista ilíaca, e aferição da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) utilizando o esfigmomanômetro de mercúrio após 10 minutos de repouso⁸.

Foram realizados exames de citologia oncótica vaginal, colposcopia, ultrassonografia endovaginal, ultrassonografia mamaria e mamografia para descartar qualquer condição proibitiva para o uso da TH. Todas as pacientes foram submetidas à coleta de sangue, após jejum de 12 horas, para as dosagens de FSH, estradiol, GJ, colesterol total (CT), TG, HDL e lipoproteína de baixa densidade (LDL).

As análises séricas de GJ e do perfil lipídico foram realizadas através da metodologia de química seca pelo aparelho VITROS 950 (Johnson & Johnson®, Rochester, EUA). As dosagens de FSH e estradiol foram obtidas através da técnica de quimioluminescência utilizando o aparelho Immulite 2000 (Siemens®, Tarrytown, EUA).

A medida do cortisol foi realizada pela coleta, à meia-noite, do cortisol salivar, através do dispositivo Salivette (Sarstedt®, Nümbrecht, Alemanha). As participantes receberam instruções detalhadas, orais e escritas, sobre como coletar a amostra de saliva. Foram orientadas a realizarem a coleta de saliva após mastigação por 5 minutos do dispositivo de algodão contido no Salivette, a armazenar a amostra na geladeira, em temperatura entre 4-8°C, e a devolver ao centro de pesquisa no dia seguinte, em isopor resfriado, para que fosse enviado imediatamente ao laboratório. Receberam a

informação para não realizarem tratamento dentário 24 horas antes da coleta e a não escovarem os dentes até 3 horas antes do procedimento.

As concentrações do cortisol salivar foram medidas pela técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa em tandem (Espectrômetro de Massa, IV Premier®, Steinheim, Alemanha). As variações intra e inter-ensaio foram inferiores a 0,4% e o limite inferior de detecção foi de 0,8 nmol/L. A interpretação dos resultados foram baseados no valor de corte recomendado pelo laboratório (normal < 2,76 nmol/L). Pacientes com valores acima da referência foram submetidas ao teste de supressão com 2mg de dexametasona para exclusão da síndrome de Cushing.

Após as coletas laboratoriais, as pacientes iniciaram o uso da TH com 17- β -estradiol 1g e drospirenona 2mg, diariamente, durante 6 meses. Mensalmente as pacientes compareciam ao ambulatório para avaliação da adesão ao tratamento através da contagem dos comprimidos devolvidos, e aquelas com adesão inferior a 70% eram excluídas do estudo. Após 6 meses de tratamento as pacientes foram novamente submetidas ao exame clínico, exames séricos e nova coleta do cortisol salivar à meia-noite.

Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas, percentuais e as medidas estatísticas: média, mediana, desvio padrão e o coeficiente de correlação de Spearman (técnicas de estatística descritiva). Foram utilizadas técnicas de estatística inferencial através dos testes t-Student pareado e Wilcoxon para dados pareados. A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%. Ressalta-se que a escolha do teste de Wilcoxon para dados pareados foi devido ao tipo de variável, e a correlação de Spearman foi pela não verificação da hipótese de normalidade dos dados. A verificação da normalidade foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk. O

programa estatístico utilizado para digitação dos dados e obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 17.

4. Resultados - Artigo Original

Efeito em curto prazo da terapia hormonal sobre o cortisol salivar, obesidade central e pressão arterial em mulheres na pós-menopausa.

Short-term effects of hormonal therapy on salivary cortisol, central obesity and blood pressure in post menopausal women.

Marques TF¹, Diniz ET¹, Mendes M¹, Coelho IM², Bandeira F¹, Azevedo H³

1. Departamento de Endocrinologia e Diabetes, Hospital Agamenon Magalhães - (MS/SUS) - Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.
2. Ambulatório de Endocrinologia Ginecológica, Hospital Agamenon Magalhães - (MS/SUS) - Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.
3. Departamento de Neurocirurgia – Hospital da Restauração – (MS/SUS) - Universidade de Pernambuco, Recife, Brasil.

Correspondência para:

Thyciara Fontenele Marques

Rua Desembargador Góis Cavalcanti, 100, Parnamirim, 52060-140 Recife – PE

E-mail: thyciarafontenele@hotmail.com

RESUMO

Objetivo: Avaliar a função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, através do cortisol salivar da meia-noite, e sua relação com parâmetros clínicos e laboratoriais em mulheres na pós-menopausa inicial, antes e após seis meses do uso da terapia hormonal (TH). **Métodos:** Ensaio clínico aberto realizado em mulheres nos primeiros cinco anos de menopausa com indicação para o uso da TH. Foram avaliados os níveis pressóricos, a medida da circunferência abdominal (CA), o índice de massa corpórea (IMC), perfil lipídico, perfil glicêmico e dosagem do cortisol salivar da meia-noite antes e após seis meses de uso diário de 17- β -estradiol 1g e drospirenona 2mg. **Resultados:** Dezenove pacientes concluíram o estudo. Observamos um declínio na média dos níveis de cortisol salivar ao longo do tratamento, porém, sem relevância estatística ($p=0,488$). A medida da CA apresentou redução significativa (90,21 cm vs 88,53 cm) com $p=0,011$, dado não observado com a média do IMC (27,55 kg/m² vs 27,26 kg/m²; $p=0,152$). A média dos níveis de pressão arterial sistólica, colesterol total, glicemia de jejum (GJ) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) apresentaram declínio estatisticamente significativo após os seis meses de tratamento. Houve uma correlação entre os níveis de cortisol e pressão arterial sistólica, diastólica e GJ, antes do uso da TH, que não se manteve após o período de tratamento. **Conclusão:** O uso da TH por seis meses não foi capaz de promover redução nos níveis de cortisol salivar à meia noite, mas foi responsável por uma redução significativa na CA, pressão arterial sistólica, níveis de LDL e GJ.

DESCRITORES: menopausa, cortisol salivar, síndrome metabólica, hipercortisolismo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the function of hypothalamo-pituitary-adrenal axis, through the midnight salivary cortisol, and its relation with clinical and laboratory parameters in initial postmenopausal women, six months before and after the use of hormone therapy (HT). **Methods:** Open clinical trial conducted on women in their first five years of menopause with indication for the use of HT. It was evaluated the blood pressure levels, measurement of waist circumference (WC), the body mass index (BMI), lipid profile, glycemic profile and the midnight salivary cortisol dosage six months before and after the daily use of 17- β -estradiol 1g and drospirenone 2mg. **Results:** Nineteen patients completed the study. It was observed a decrease in the average salivary cortisol levels during treatment, but without statistical significance ($p=0.488$). The WC measurement showed a significant reduction (90.21 cm vs 88.53 cm) with $p=0.011$, same result was not observed with the BMI average (27.55 kg/m² vs 27.26 kg/m²; $p=0.152$). The average levels of systolic blood pressure, total cholesterol, fasting plasma glucose (FPG) and low density lipoprotein (LDL) showed statistically significant decrease after six months of treatment. There was a correlation between the cortisol levels and systolic, diastolic blood pressure and FPG, before the use of HT, which is not maintained after the treatment period. **Conclusion:** The use of HT for six months was not able to decrease the levels of midnight salivary cortisol, but was responsible for a significant reduction of WC, systolic blood pressure, LDL levels and FPG.

KEYWORDS: menopause, salivary cortisol, metabolic syndrome, hypercortisolism.

INTRODUÇÃO

Há um interesse crescente na compreensão da relação entre os processos hormonais observados durante a menopausa inicial e os desfechos cardiovasculares. Uma hipótese pouco estudada é a de um possível estado de hipercortisolismo gerado durante o período menopausal, como consequência de uma disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), e o impacto que a terapia hormonal (TH) exerceria sobre este estado.

A integração entre os eixos hipotálamo-hipófise-adrenal e hipotálamo-hipófise-ovário (HHO) já é bem estudada e estabelecida, porém o funcionamento do eixo HHA ainda não é bem compreendido durante a transição menopausal, um tempo de imensas mudanças no eixo HHO^{1,2}. Até o momento, escassos estudos descreveram a ativação do eixo HHA durante a menopausa, indicada pelo aumento nos níveis séricos ou urinários de cortisol. Este fato pode ser explicado por flutuações ou picos nos níveis de estradiol, tão comuns nesta fase, que parecem regular a expressão de genes humanos do hormônio liberador da corticotropina (CRH)^{3,4}.

O cortisol desempenha um papel importante nas respostas psicobiológicas. O estado de hipercortisolismo, mesmo subclínico, tem sido associado ao aumento na morbi-mortalidade, por ser considerado um fator determinante independente para a síndrome metabólica (SM)⁵.

A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte em mulheres na pós-menopausa, mas pouco se sabe sobre a progressão da doença aterosclerótica nestas mulheres. Muitos componentes da síndrome metabólica surgem com as oscilações

estrogênicas e com o possível estado de hipercortisolismo. O acúmulo de gordura visceral, tão comum nesta fase, desempenha um papel central nas alterações metabólicas e pode explicar, em parte, a separação temporal no risco de DCV entre homens e mulheres⁶.

O objetivo deste estudo foi avaliar a função do eixo HHA, através da medida do cortisol salivar da meia-noite, e sua relação com parâmetros clínicos e laboratoriais como pressão arterial, circunferência abdominal, perfil glicêmico e perfil lipídico, em mulheres na pós-menopausa inicial, antes e após o uso da terapia hormonal.

PACIENTES E MÉTODOS

Este foi um ensaio clínico aberto realizado em conformidade com a Declaração de Helsinque para estudos em humanos, após a aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa local. Entre junho de 2010 e maio de 2011, as mulheres atendidas no ambulatório de Climatério do Hospital Agamenom Magalhães, Recife, Brasil, foram convidadas a participar do estudo.

Os seguintes critérios de inclusão foram aplicados: mulheres entre 1 a 5 anos de amenorréia fisiológica, com indicação para o uso de terapia hormonal e níveis do hormônio folículo estimulante (FSH) acima de 30 UI/L. Foram excluídas mulheres acima de 60 anos, histerectomizadas, em uso atual ou prévio de TH, inclusive fitoterápicos, pacientes sabidamente diabéticas, tabagistas, portadoras de doença prévia ou atual do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, em uso de corticóides e drogas

neuroativas, portadoras de disfunção cognitiva que impossibilitasse a coleta do cortisol salivar e mulheres com contra-indicação à TH.

A definição de síndrome metabólica foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pela *International Diabetes Federation* (IDF) para mulheres, que envolve a presença obrigatória de obesidade central (circunferência abdominal ≥ 80 cm) associada a dois ou mais dos seguintes componentes: níveis de triglicédeos (TG) acima de 150 mg/dL ou uso de tratamento específico, lipoproteína de alta densidade (HDL) abaixo de 50 mg/dL ou uso de tratamento específico, hipertensão arterial sistêmica $\geq 130/85$ mmHg ou tratamento de hipertensão previamente diagnosticada e glicemia de jejum (GJ) ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de *diabetes mellitus* tipo 2⁷.

Os seguintes dados do exame físico foram obtidos: peso (kg) e altura (m) para cálculo do índice de massa corpórea (IMC), utilizando a fórmula peso/altura², medida da circunferência abdominal (CA), realizada no plano horizontal, com paciente em pé, na metade da distância entre o rebordo costal inferior e a crista ilíaca, e aferição da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) utilizando o esfigmomanômetro de mercúrio após 10 minutos de repouso⁸.

Foram realizados exames de citologia oncótica vaginal, colposcopia, ultrassonografia endovaginal, ultrassonografia mamaria e mamografia para descartar qualquer condição proibitiva para o uso da TH. Todas as pacientes foram submetidas à coleta de sangue, após jejum de 12 horas, para as dosagens de FSH, estradiol, GJ, colesterol total (CT), TG, HDL e lipoproteína de baixa densidade (LDL).

As análises séricas de GJ e do perfil lipídico foram realizadas através da metodologia de química seca pelo aparelho VITROS 950 (Johnson & Johnson®, Rochester, EUA). As dosagens de FSH e estradiol foram obtidas através da técnica de

quimioluminescência utilizando o aparelho Immulite 2000 (Siemens®, Tarrytown, EUA).

A medida do cortisol foi realizada pela coleta, à meia-noite, do cortisol salivar, através do dispositivo Salivette (Sarstedt®, Nümbrecht, Alemanha). As participantes receberam instruções detalhadas, orais e escritas, sobre como coletar a amostra de saliva. Foram orientadas a realizarem a coleta de saliva após mastigação por 5 minutos do dispositivo de algodão contido no Salivette, a armazenar a amostra na geladeira, em temperatura entre 4-8°C, e a devolver ao centro de pesquisa no dia seguinte, em isopor resfriado, para que fosse enviado imediatamente ao laboratório. Receberam a informação para não realizarem tratamento dentário 24 horas antes da coleta e a não escovarem os dentes até 3 horas antes do procedimento.

As concentrações do cortisol salivar foram medidas pela técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa em tandem (Espectrômetro de Massa, IV Premier®, Steinheim, Alemanha). As variações intra e inter-ensaio foram inferiores a 0,4% e o limite inferior de detecção foi de 0,8 nmol/L. A interpretação dos resultados foram baseados no valor de corte recomendado pelo laboratório (normal < 2,76 nmol/L). Pacientes com valores acima da referência foram submetidas ao teste de supressão com 2mg de dexametasona para exclusão da síndrome de Cushing.

Após as coletas laboratoriais, as pacientes iniciaram o uso da TH com 17- β -estradiol 1g e drospirenona 2mg, diariamente, durante 6 meses. Mensalmente as pacientes compareciam ao ambulatório para avaliação da adesão ao tratamento através da contagem dos comprimidos devolvidos, e aquelas com adesão inferior a 70% eram excluídas do estudo. Após 6 meses de tratamento as pacientes foram novamente

submetidas ao exame clínico, exames séricos e nova coleta do cortisol salivar à meia-noite.

Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas, percentuais e as medidas estatísticas: média, mediana, desvio padrão e o coeficiente de correlação de Spearman (técnicas de estatística descritiva). Foram utilizadas técnicas de estatística inferencial através dos testes t-Student pareado e Wilcoxon para dados pareados. A margem de erro utilizada nas decisões foi de 5%. Ressalta-se que a escolha do teste de Wilcoxon para dados pareados foi devido ao tipo de variável, e a correlação de Spearman foi pela não verificação da hipótese de normalidade dos dados. A verificação da normalidade foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk. O programa estatístico utilizado para digitação dos dados e obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 17.

Os autores tinham acesso aos dados e assumiram a responsabilidade por sua integridade. Todos os autores leram e concordaram com o texto do manuscrito.

RESULTADOS

Durante o período da pesquisa, 336 pacientes foram atendidas no ambulatório de climatério e 23 delas recrutadas a participar do estudo. Ao longo dos 6 meses de uso da TH, três pacientes não atingiram a adesão mínima ao tratamento e foram excluídas, enquanto uma paciente, por motivos pessoais, decidiu abandonar o estudo, restando 19 pacientes para a análise. As características basais estão demonstradas na tabela 1.

Duas participantes apresentaram na coleta inicial níveis elevados do cortisol salivar (10,2 nmol/L e 8,21 nmol/L) e foram submetidas ao teste de supressão com 2mg de dexametasona para exclusão da síndrome de Cushing. Os testes foram negativos para a doença e as pacientes permaneceram no estudo.

Ao avaliarmos os critérios para a síndrome metabólica, observamos que antes do uso da TH 36,9% das mulheres eram portadoras da síndrome e, em relação ao número de critérios presentes, 21,1%, 10,5% e 5,3% das participantes tinham, respectivamente, 3, 4 e 5 critérios definidores.

Após 6 meses do uso da TH observamos um declínio na média dos níveis de cortisol salivar ao longo do tratamento, de 2,00 nmol/L para 1,51nmol/L, sem relevância estatística ($p=0,488$). A medida da circunferência abdominal apresentou redução significativa (90,21 cm vs 88,53 cm) com $p=0,011$, dado não observado quando analisamos a média do IMC (27,55 kg/m² vs 27,26 kg/m²; $p=0,152$). A média dos níveis de pressão arterial sistólica, colesterol total, glicemia de jejum e LDL apresentaram declínio estatisticamente significante após os 6 meses de tratamento, como detalhado na tabela 2.

Após o uso contínuo da TH apenas 21,1% das mulheres permaneceram com síndrome metabólica, 15,8% exibiram 3 critérios, 5,3% 4 critérios e nenhuma paciente apresentou todos os componentes da síndrome.

A tabela 3 exibe a correlação entre os níveis de cortisol salivar e os dados antropométricos e laboratoriais antes e após o uso da TH. Houve uma correlação entre os níveis de cortisol e PAS, PAD e GJ, antes do uso da TH, que não se manteve após os 6 meses de tratamento.

DISCUSSÃO

A ativação do córtex adrenal pode ocorrer como consequência das alterações nos níveis dos esteróides sexuais, evento típico da menopausa inicial, e gerar um aumento na fração biologicamente ativa do cortisol. No entanto, até o momento, poucos estudos demonstraram a influência deste período endócrino complexo sobre o eixo adrenal.

No nosso trabalho identificamos uma redução nos níveis de cortisol salivar, medido por técnica ultra-sensível, em mulheres na menopausa inicial após o uso da terapia hormonal, porém sem relevância estatística, provavelmente pelo tamanho da amostra reduzido. Duas de nossas pacientes apresentaram uma queda importante destes níveis após 6 meses do tratamento (10,2 nmol/L para 0,91 nmol/L e 8,21 nmol/L para 0,99 nmol/L).

Em 2006, Woods e colaboradores demonstraram um aumento nos níveis de cortisol em 91 mulheres na fase inicial da menopausa submetidas à coleta mensal, durante 12 meses, de uma amostra matinal de urina⁹. Recentemente, Cagnacii e colaboradores publicaram dados de 85 mulheres sugerindo um estado de hipercortisolismo através da dosagem de cortisol urinário de 24 horas, bem como uma correlação entre estes níveis e parâmetros da síndrome metabólica⁵. Em 2008, o grupo de Kalleinen estudou o perfil de 24 horas do cortisol sérico em mulheres na pós-menopausa, antes e após seis meses do início da TH. Os dados não revelaram mudanças nos níveis de cortisol após o tratamento¹⁰.

Uma crítica importante a estes estudos foi o uso da dosagem do cortisol urinário e do cortisol sérico. Medidas do cortisol são extremamente úteis no diagnóstico do hipercortisolismo, porém, é importante ter o conhecimento que vários fatores podem afetar a concentração do cortisol sérico, em especial a variação da secreção do cortisol ao longo do dia e sua ligação com proteínas transportadoras. Esta dosagem não reflete a fração biologicamente ativa do hormônio¹¹⁻¹⁸. Apesar da excreção de cortisol em urina de 24 horas fornecer um índice direto da secreção do cortisol livre, esta técnica apresenta limitações na coleta e no número de resultados falso-positivos¹⁹⁻²⁰.

Uma alternativa atraente é a utilização da dosagem do cortisol salivar à meia-noite, como foi realizada por nosso grupo, que reflete a fração biologicamente ativa do hormônio, especialmente útil em pacientes ambulatoriais²¹. Em uma meta-análise de seis estudos, esta dosagem foi considerada um teste de alta acurácia, especialmente quando utilizado o método de cromatografia líquida em espectrometria de massa, que tem como vantagem a impossibilidade de reação cruzada com o cortisol sintético, comumente utilizado pela população geral²²⁻²⁶. Esta técnica não foi utilizada por nenhum outro estudo de avaliação do estado de hipercortisolismo na menopausa.

A incidência de síndrome metabólica aumenta substancialmente durante a menopausa inicial²⁷. Muitos autores consideram este período como um fator de risco independente para o desenvolvimento da SM e apoiam a hipótese que a TH reduz o risco de desenvolvimento da síndrome e de eventos cardiovasculares, se iniciada precocemente^{28,29}.

O estrógeno endógeno apresenta propriedades anti-inflamatórias e anti-trombóticas, agindo através da regulação na produção de óxido nítrico, redução das espécies reativas de oxigênio e inibição da expressão de moléculas de adesão de superfície e moléculas pró-coagulantes. Com a perda do estrógeno endógeno, na

transição menopausal, o endotélio vascular é ativado e isto facilita a adesão de leucócitos e plaquetas no local, que contribuem para o espessamento intimal e para lesões vasculares. A TH oportuna parece reverter este estado³⁰.

Nossos dados comprovam uma redução na medida da circunferência abdominal após o uso da TH, no entanto não observamos modificação no IMC, sugerindo que a TH interfere predominantemente na composição da gordura visceral. A maioria dos estudos, mas não todos, sugerem que o uso da TH está associado à redução na adiposidade e a mudanças na composição corporal com diminuição da gordura visceral^{31, 32}. Aloia e colaboradores, no entanto, demonstraram que estas modificações corporais não são impedidas pela TH³³.

No nosso trabalho, a média dos níveis de pressão arterial sistólica apresentou correlação com os níveis de cortisol e declínio estatisticamente significativo após os 6 meses de tratamento. Vários estudos demonstram uma associação entre os níveis de cortisol e a pressão arterial³⁴⁻³⁶. Esta correlação pode ser atribuída ao efeito do estresse que leva à ativação do eixo HHA e do sistema nervoso simpático gerando um aumento na resposta vasoconstrictora e uma diminuição na produção de substâncias vasodilatadoras^{37, 38}.

A menopausa é comumente caracterizada por um aumento na pressão arterial. Os ensaios clínicos sugerem que a administração de estrógeno oral pode produzir efeito neutro ou um pequeno aumento na pressão arterial e que a administração da drospirenona, progesterona com ação inibidora do receptor da aldosterona, tem demonstrado um efeito anti-hipertensivo significativo o que pode justificar os achados do nosso estudo^{39, 40}.

Observamos também uma correlação entre os níveis de glicose em jejum e o cortisol e uma redução destes níveis com o uso da TH. Os níveis de cortisol estão significativamente associados com a concentração da glicose em jejum⁴¹. O excesso de glicocorticóides estimula a expressão de diversas enzimas-chaves envolvidas no processo de gliconeogênese e induz a uma diminuição da sensibilidade à insulina, diretamente ao interferir com o receptor da insulina ou indiretamente, através da estimulação da lipólise e proteólise. Por fim, o excesso de cortisol é capaz de prejudicar a secreção de insulina agindo diretamente nas células beta-pancreáticas⁴²⁻⁴⁴.

Mulheres na menopausa apresentam um aumento no risco de intolerância à glicose e diabetes mellitus. O avanço da idade, sedentarismo, aumento na adiposidade central e declínio nos níveis de hormônios ovarianos são fatores prováveis para o aumento deste risco. O estrógeno parece estar associado ao diabetes por meio de sua relação com o aumento na resistência à insulina, obesidade e marcadores inflamatórios, no entanto, estudos com o uso de baixas dosagens de estradiol na TH mostraram um menor risco de desenvolvimento da doença^{45, 46}.

O principal fator limitante do nosso estudo foi o pequeno número de indivíduos analisados, não permitindo que os resultados encontrados em nossa amostra sejam inferidos para toda a população de pacientes em menopausa. No entanto, esse foi o primeiro estudo que avaliou um possível estado de hipercortisolismo na menopausa utilizando uma técnica ultra-sensível de dosagem do cortisol.

Em resumo, nosso estudo mostrou que uso da TH por seis meses não foi capaz de promover redução nos níveis de cortisol salivar à meia noite, provavelmente pelo número pequeno da amostra utilizada, mas foi responsável por uma redução significativa na CA, pressão arterial sistólica e GJ, componentes da síndrome

metabólica, mesmo não podendo ser atribuída a uma possível melhora no estado de hipercortisolismo. São necessários mais estudos, utilizando técnica ultra-sensível da dosagem de cortisol, para melhor elucidação desta questão.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dorn LD, Chrousos GP. The neurobiology of stress: understanding regulation of affect during female biological transitions. *Semin Reprod Endocrinol*. 1997;15:19-35.
2. Mc Ewen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*. 2007;87:873-904.
3. Randolph JF, Sowers M, Gold EB, et al. Reproductive hormones in the early menopausal transition: relationship to ethnicity, body size, and menopausal status. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1516-1522.
4. Santoro N, Brown JR, Adel T, Skurnick JH. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:1495-1501.
5. Cagnacci A, Cannoletta M, Caretto S, et al. Increased cortisol level: a possible link between climacteric symptoms and cardiovascular risk factors. *Menopause*. 2011;18(3):273-8.
6. Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(6):2404-11.

7. Alberti K, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome – a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006;23:469-480.
8. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005;365:1415–1428.
9. Woods NF, Carr MC, Tao EY, et al. Increased urinary cortisol levels during the menopausal transition. *Menopause.* 2006;13(2):212-21.
10. Kalleinen N, Polo-Kantola P, Irjala K, et al. 24-hour serum levels of growth hormone, prolactin, and cortisol in pre- and postmenopausal women: the effect of combined estrogen and progestin treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1655-61.
11. Arafah BM. Hypothalamic pituitary adrenal function during critical illness: limitations of current assessment methods. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(10):3725-45.
12. Marik PE, Pastores SM, Annane D. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med.* 2008;36(6):1937-49.
13. Limor R, Tordjman K, Marcus Y, et al. Serum free cortisol as an ancillary tool in the interpretation of the low-dose 1- μ g ACTH test. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;75(3):294-300.
14. Perogamvros I, Kayahara M, Trainer PJ, Ray DW. Serum regulates cortisol bioactivity by corticosteroid-binding globulin dependent and independent mechanisms, as revealed by combined bioassay and physicochemical assay

- approaches. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011, 21. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04003.x.
15. Perogamvros I, Aarons L, Miller AG, et al. Corticosteroid-binding globulin regulates cortisol pharmacokinetics. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(1):30-6.
 16. Sakihara S, Kageyama K, Oki Y. Evaluation of plasma, salivary, and urinary cortisol levels for diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocr J*. 2010;57(4):331-7.
 17. Alexandraki KI, Grossman AB. Is urinary free cortisol of value in the diagnosis of Cushing's syndrome? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011;18(4):259-63.
 18. Huang W, Kalhorn TF, Baillie M, et al. Determination of free and total cortisol in plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ther Drug Monit*. 2007;29(2):215.
 19. Corcuff JB, Tabarin A, Rashedi M, et al. Overnight urinary free cortisol determination: a screening test for the diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;48(4):503.
 20. Mericq MV, Cutler GB Jr. High fluid intake increases urine free cortisol excretion in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(2):682.
 21. Zerikly RK, Amiri L, Faiman C. Diagnostic characteristics of late-night salivary cortisol using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(10):4555-9.
 22. Elamin MB, Murad MH, Mullan R. Accuracy of diagnostic tests for Cushing's syndrome: a systematic review and metaanalyses. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1553.
 23. Raff H. Utility of salivary cortisol measurements in Cushing's syndrome and adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):3647-55.

24. León-Justel A, Mangas MA, Fontán RI. Budget impact of using midnight salivary cortisol in the diagnosis of hypercortisolism. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2248-53.
25. Munsterhjelm K, Nordell KM, Brunen B, et al. [Physicians defend Scandlab: "Salivary cortisol test can determine adrenal fatigue". *Lakartidningen*. 2011 25-31;108(21):1196-7.
26. Hanneman SK, Cox CD, Green KE, Kang DH. Estimating intra- and inter-assay variability in salivary cortisol. *Biol Res Nurs*. 2011;13(3):243-50.
27. Polotsky HN, Polotsky AJ. Metabolic implications of menopause. *Semin Reprod Med*. 2010;28(5):426-34.
28. Miller VM, Black DM, Brinton EA. Using basic science to design a clinical trial: baseline characteristics of women enrolled in the Kronos Early Estrogen Prevention Study (KEEPS). *J Cardiovasc Transl Res*. 2009;2(3):228-39.
29. Miller VM, Best PJ. Implications for reproductive medicine: Sex differences in cardiovascular disease. *Sex Reprod Menopause*. 2011;9(3):21-28.
30. Misra M, Bredella MA, Tsai P, et al. Lower growth hormone and higher cortisol are associated with greater visceral adiposity, intramyocellular lipids, and insulin resistance in overweight girls. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295:E385–E392.
31. Lobo RA. Metabolic syndrome after menopause and the role of hormones. *Maturitas*. 2008;60(1):10-8.
32. Santen RJ, Allred DC, Ardoin SP, et al. Postmenopausal hormone therapy: an Endocrine Society scientific statement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95:s1–s66.

33. Aloia JF, Vaswani A, Russo L, et al. The influence of menopause and hormonal replacement therapy on body cell mass and body fat mass. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;172:896–900.
34. Sen Y, Aygun D, Yilmaz E, Ayar A. Children and adolescents with obesity and the metabolic syndrome have high circulating cortisol levels. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008;29:141–145.
35. Duclos M, Marque P, Barat P, et al. Increased cortisol bioavailability, abdominal obesity, and the metabolic syndrome in obese women. *Obes Res.* 2005;13:1157–1166.
36. Weigensberg MJ, Toledo-Corral CM, Goran MI. Association between the metabolic syndrome and serum cortisol in overweight Latino youth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1372–1378.
37. Mitchell BM, Webb RC. Impaired vasodilation and nitric oxide synthase activity in glucocorticoid-induced hypertension. *Biol Res Nurs.* 2001;4:16–21.
38. Mitchell BM, Dorrance AM, Webb RC. GTP cyclohydrolase 1 downregulation contributes to glucocorticoid hypertension in rats. *Hypertension.* 2003;41:669-74.
39. Preston RA. Comparative effects of conventional vs. novel hormone replacement therapy on blood pressure in postmenopausal women. *Climacteric.* 2009;12 Suppl 1:66-70.
40. Gambacciani M, Rosano G, Cappagli B. Clinical and metabolic effects of drospirenone-estradiol in menopausal women: a prospective study. *Climacteric.* 2011;14(1):18-24.
41. Phillips DI, Barker DJ, Fall CH, et al. Elevated plasma cortisol concentrations: a link between low birth weight and the insulin resistance syndrome? *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 83: 757–760.

42. Pivonello R, De Leo M, Vitale P, et al. Pathophysiology of diabetes mellitus in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*. 2010;92 Suppl 1:77-81.
43. Chiodini I. Clinical review: Diagnosis and treatment of subclinical hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(5):1223-36.
44. Felsoci M, Schroner Z, Petrovicová J, Lazúrová I. Relationship between type 2 diabetes mellitus and hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Wien Klin Wochenschr*. 2011;123(1-2):28-33.
45. Baglietto L, English DR, Hopper JL, et al. Circulating steroid hormone concentrations in postmenopausal women in relation to body size and composition. *Breast Cancer Res Treat*. 2009; 115:171–179.
46. Kalyani RR, Franco M, Dobs AS. The association of endogenous sex hormones, adiposity, and insulin resistance with incident diabetes in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Nov;94(11):4127-35.

TABELAS

Tabela 1. Características basais dos 19 participantes do estudo.

Variável	Média e desvio padrão
Idade (anos)	52,37 ± 4,79
Tempo de amenorréia (anos)	2,55 ± 1,26
IMC (kg/m ²)	27,55 ± 5,18
Circunferência abdominal (cm)	90,21 ± 10,87
PAS (mmHg)	122,63 ± 16,28
PAD (mmHg)	76,84 ± 11,08
FSH (mUI/mL)	94,15 ± 50,24
Estradiol (pg/mL)	22,16 ± 3,84
GJ (mg/dL)	86,21 ± 7,20
Colesterol total (mg/dL)	224,21 ± 34,70
Triglicerídeo (mg/dL)	140,63 ± 59,06
LDL (mg/dL)	135,53 ± 27,40
HDL (mg/dL)	62,74 ± 18,19
Cortisol (nmol/L)	2,00 ± 2,60

IMC: Índice de massa corpórea; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FSH: Hormônio folículo estimulante; GJ: Glicemia de jejum; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade

Tabela 2 – Estatísticas dos dados antropométricos e laboratoriais por tempo de avaliação.

Variável	Avaliação			Valor de p
	Antes	Depois	Diferenças	
	Média ± DP (Mediana)	Média ± DP (Mediana)	Média ± DP (Mediana)	
• IMC (kg/m ²)	27,55 ± 5,18 (27,60)	27,26 ± 4,87 (27,10)	0,29 ± 0,85 (0,00)	p ⁽¹⁾ = 0,152
• CA (cm)	90,21 ± 10,87 (89,00)	88,53 ± 10,34 (88,00)	1,68 ± 2,60 (2,00)	p ⁽¹⁾ = 0,011*
• PAS (mmHg)	122,63 ± 16,28 (130,00)	116,84 ± 15,29 (120,00)	5,79 ± 11,21 (0,00)	p ⁽¹⁾ = 0,037*
• PAD (mmHg)	76,84 ± 11,08 (80,00)	74,21 ± 9,61 (80,00)	2,63 ± 9,91 (0,00)	p ⁽¹⁾ = 0,262
• CT (mg/dL)	224,21 ± 34,70 (227,00)	204,37 ± 24,40 (208,00)	19,84 ± 35,58 (20,00)	p ⁽¹⁾ = 0,026*
• TG (mg/dL)	140,63 ± 59,06 (131,00)	116,11 ± 38,03 (119,00)	24,53 ± 53,25 (0,00)	p ⁽¹⁾ = 0,060
• GJ (mg/dL)	86,21 ± 7,20 (86,00)	79,74 ± 7,80 (79,00)	6,47 ± 7,95 (7,00)	p ⁽¹⁾ = 0,002*
• LDL (mg/dL)	135,53 ± 27,40 (133,00)	119,74 ± 19,58 (120,00)	15,79 ± 27,93 (14,00)	p ⁽¹⁾ = 0,024*
• HDL (mg/dL)	62,74 ± 18,19 (66,00)	61,05 ± 13,41 (59,00)	1,68 ± 9,73 (1,00)	p ⁽¹⁾ = 0,460
• Cortisol (nmol/L)	2,00 ± 2,60 (1,29)	1,51 ± 0,92 (1,38)	0,49 ± 3,02 (-0,44)	p ⁽¹⁾ = 0,488

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Através do teste t-Student Pareados.

IMC: Índice de massa corpórea; CA: circunferência abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; CT: colesterol total; TG: triglicérides; GJ: Glicemia de jejum; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade

Tabela 3 – Correlação de Spearman dos níveis de cortisol entre os dados antropométricos e laboratoriais por avaliação

Variável	Níveis de cortisol	
	Antes r (s)	Depois r (s)
• Antropométricos		
IMC (kg/m ²)	0,300 (0,212)	-0,289 (0,230)
CA (cm)	0,225 (0,354)	-0,279 (0,247)
PAS (mmHg)	0,675 (0,002)*	-0,350 (0,141)
PAD (mmHg)	0,623 (0,004)*	-0,205 (0,399)
• Laboratoriais		
CT (mg/dL)	-0,096 (0,695)	-0,240 (0,323)
TG (mg/dL)	-0,041 (0,867)	-0,132 (0,590)
GJ (mg/dL)	0,484 (0,036)*	-0,126 (0,606)
LDL (mg/dL)	-0,147 (0,547)	-0,219 (0,368)
HDL (mg/dL)	-0,172 (0,480)	0,028 (0,908)

(*): Estatisticamente diferente de zero.

IMC: Índice de massa corpórea; CA: circunferência abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; GJ: Glicemia de jejum; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade

5. Considerações Finais

Os dados presentes na literatura a respeito da associação da menopausa com o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ainda são escassos, contraditórios e com metodologias questionáveis. Nenhum estudo anterior tentou relacioná-los utilizando uma técnica ultra-sensível de dosagem do cortisol. Nossos resultados não conseguiram provar que a menopausa está relacionada ao estado de hipercortisolismo e que a terapia hormonal seria capaz de reverter este estado, provavelmente porque utilizamos uma amostra reduzida de pacientes. Mais estudos são necessários para elucidar esta questão.

Anexo**ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa**

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE
HOSPITAL AGAMENON MAGALHÃES

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Recife, 31 de maio de 2010.

Prezada Investigadora

Informamos a Vsa que foi aprovado na reunião do dia 26/05/2010, pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Agamenon Magalhães, o projeto de pesquisa, **“AVALIAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPOFISE-ADRENAL MEDIDA POR CORTISOL SALIVAR EM MULHERES NA PÓS-MENOPAUSA INICIAL: EFEITO DA REPOSIÇÃO ESTROGÊNICA”**, nº do registro do CEP: 118, conforme normas para pesquisa, envolvendo seres humanos resolução 196/96.

Atenciosamente,

Maria Tereza Dutra
Secretária Executiva do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Agamenon Magalhães

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____ RG _____, residente na Rua/Av _____ nº _____ Apto _____, Bairro _____ Cidade _____ Estado _____, autorizo, em duas vias, a Médica/pesquisadora Thyciara Fontenele Marques, a me avaliar através da realização de coleta de amostras de cortisol salivar. Concordo com a utilização de dados clínicos pessoais e respostas do questionário, além dos resultados dos exames. Os riscos e benefícios referentes aos procedimentos realizados e ao desenvolvimento do estudo foram explicados e esclarecidos.

Os resultados obtidos poderão ser aproveitados para fins de ensino e pesquisa científica, desde que minha identidade não seja revelada.

Reservo-me o direito de interromper a minha participação no estudo, se julgar conveniente, a qualquer momento e sem nenhuma penalização.

Fica assegurado que a realização do referido exame correrá sem ônus financeiro para minha participação. Caso necessário, poderei contactar o serviço de endocrinologia do Hospital Agamenom Magalhães ou a médica através do telefone 3184-1706 ou 8649-1979.

Recife, _____ de _____ de 20____

Voluntário (paciente)

Responsável da Pesquisa

Testemunha