

FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LEPTINA
EM MULHERES INFÉRTEIS DO SETOR DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA DO
HCPA

ANA CAROLINA CANTARELLI ANDRETTI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LEPTINA
EM MULHERES INFÉRTEIS DO SETOR DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA DO
HCPA

ANA CAROLINA CANTARELLI ANDRETTI

A apresentação da dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos

Co-orientadora: Profa. Dra. Cileide Cunha Moulin

Porto Alegre
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A561 Andretti, Ana Carolina Cantarelli.

Avaliação antropométrica e dos níveis plasmáticos de leptina em mulheres inférteis do setor de reprodução assistida do HCPA/ Ana Carolina Cantarelli Andretti. – 2006.

83 f. : 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2006.

Bibliografia: f. 42-51 ; f.79-82.

1. Infertilidade – 2. Leptina – 3. IMC – 4. Taxa gordura corporal – I. Título

CDU 572.087:618.177

Bibliotecária responsável:
Mabel Fernandes Figueiró
CRB-10/ 757

DEDICATÓRIA

*A todos aqueles que amo e que
acreditaram no meu sonho.*

AGRADECIMENTOS

Aos professores Eduardo Pandolfi Passos e Cileide Cunha Moulin pela oportunidade, dedicação e participação no meu processo de conhecimento.

Aos meus pais por terem me oportunizado os estudos e acreditado em mim desde o começo da minha vida.

Aos meus irmãos que me apoiaram e ajudaram nesta caminhada.

À Cacá por várias vezes ter me ajudado mentalmente a desempenhar minhas tarefas da melhor forma possível.

Às minhas colegas e amigas Carolina Souza e Carolina Boettge, pela amizade, comprometimento e apoio na execução desta pesquisa.

A todos os profissionais da equipe do Ambulatório de infertilidade do HCPA pelo apoio e colaboração.

À estaticista Ceres Oliveira pela análise estatística e acima de tudo pelos ensinamentos e dedicação, à professora Letícia Dornelles pela revisão de linguagem e revisão do artigo em inglês, à querida Zuleica pela revisão da formatação do trabalho e à querida Mabel Figueiró pelo carinho, dedicação e apoio.

Às minhas amigas por terem estado ao meu lado durante todo o tempo.

Às minhas colegas de trabalho, e amigas do peito (Mariana, Ana Carolina, Regina e Carla), que incentivaram a minha conquista e me ajudaram a otimizar meu tempo para que isso ocorresse.

Ao meu mentor Paulo Henkin, uma pessoa que me ensinou a respeitar e a cada dia, admirar mais a minha profissão e acima de tudo um grande amigo.

À minha supervisora Elisabeth Sponchiado a qual, da melhor forma, me ajudou a concretizar esse sonho.

E a todos aqueles que estiveram ao meu lado, e assim como eu, acreditaram no meu sonho.

“Se você quer transformar o mundo, experimente primeiro promover o seu aperfeiçoamento pessoal e realizar inovações no seu próprio interior. Estas atitudes se refletirão em mudanças positivas no seu ambiente familiar. Deste ponto em diante, as mudanças se expandirão em proporções cada vez maiores. Tudo o que fazemos produz efeito, causa algum impacto.”

Dalai Lama

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 INFERTILIDADE.....	16
2.2 ANTROPOMETRIA E REPRODUÇÃO	18
2.2.1 Adiposidade: distribuição e reprodução.....	18
2.2.2 Balanço energético, estrógenos e andrógenos circulantes.....	19
2.2.3 Andrógenos em mulheres obesas.....	20
2.2.4 Consumo alimentar, estrógenos e andrógenos.....	21
2.2.5 Obesidade e ciclo menstrual	21
2.2.6 Obesidade e infertilidade.....	22
2.2.7 Obesidade e resposta ao tratamento de infertilidade.....	22
2.2.8 Efeito da perda de peso na menstruação e infertilidade	23
2.3 EQUILÍBRIO ENERGÉTICO E REPRODUÇÃO	23
2.3.1 Efeitos energéticos no Sistema HPG	30
2.3.2 Equilíbrio energético e comportamento reprodutivo	34
2.4 LEPTINA.....	36
2.4.2 Reprodução	39
3 OBJETIVOS.....	41
3.1 Objetivo Geral.....	41
3.2 Objetivos Específicos	41
4 REFERÊNCIAS	42
5 ARTICLE IN ENGLISH: ANTHROPOMETRIC AND LEPTIN PLASMATIC LEVELS EVALUATION IN INFERTILE WOMEN ATTENDING HCPA ASSISTED REPRODUCTION SECTOR.....	52
ABSTRACT.....	53
INTRODUCTION	53
MATERIALS E METHODS	54
RESULTS	56
DISCUSSION	60
ACKNOWLEDGMENTS	62
REFERENCES	63
6 ARTIGO EM PORTUGUÊS: AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LEPTINA EM MULHERES INFÉRTEIS DO SETOR DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA DO HCPA.....	67
RESUMO.....	68
INTRODUÇÃO.....	68
MATERIAL E MÉTODOS	69
RESULTADOS	71
DISCUSSÃO.....	76
AGRADECIMENTOS.....	78
REFERÊNCIAS	79
ANEXO - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

IMC	-	índice de massa corporal
TMB	-	taxa metabólica basal
E	-	estradiol
LH	-	gonadotrofina luteotrófica hipofisária
FSH	-	gonadotrofina folículo-estimulante hipofisária
DHEA	-	dehidroepiandrosterona
17 β HSD	-	17 β -hidroxiesteróide desidrogenase
IR	-	resistência à insulina
SHBG	-	globulina ligadora dos esteróides sexuais
GH	-	hormônio do crescimento
IGFBP	-	proteína transportadora de IGF
VLDL	-	lipoproteínas de densidade muito baixa
HDL	-	lipoproteínas de alta densidade
HPG	-	hipotalâmico-hipofisário-gonadal
RCQ	-	razão cintura-quadril
FT	-	testosterona livre
IUI	-	inseminação intra-uterina
FIV	-	fertilização in vitro
FFAs	-	ácidos graxos livres
GnRH	-	hormônio liberador de gonadotrofinas
SNC	-	sistema nervoso central
IGF	-	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
mRNA	-	ácido ribonucléico mensageiro
NPY	-	receptor neuropeptídico protéico hipotalâmico Y
ARC	-	núcleo arqueado
MPOA	-	área preóptica medial
ME	-	eminência mediana
PVN	-	núcleo paraventricular
IRS-2	-	substrato 2 do receptor de insulina
PYY	-	peptídeo hormonal intestinal YY
TNF- α	-	fator de necrose tumoral α

IL-6	- interleucina-6
DM2	- diabetes mellitus tipo 2
GHS-R	- receptor secretagogo de GH
GHS1a	- receptor GHS do tipo 1
AgRP	- agouti-related peptide
CART	- cocaine and amphetamine–regulated transcript peptide
POMC	- pro-ópio-melanocortina
AP	- área prostema
NTS	- núcleo do trato solitário
DMV	- núcleo dorsal motor do vago
α -MSH	- hormônio estimulante de α -melanócitos
T3	- tri-iodotironina
P	- progesterona
gene <i>ob</i>	- Gene obese
<i>ob-r</i>	- receptores ob
JAK	- Janus quinase
STAT	- (<i>Signal Transduction and Transcription</i>) sinais
hCG	- gonadotrofina coriônica humana
PRL	- prolactina
HCPA	- Hospital de Clínicas de Porto Alegre
DCT	- dobra cutânea tricipital
CB	- circunferência de braço
AMB	- área muscular de braço
GC(%)	- porcentagem de gordura corporal
CRH	- hormônio liberador de corticotropina
ACTH	- hormônio adrenocorticotrófico

LISTA DE TABELAS

Tabelas do Artigo em Inglês

Table 1 - Classification of Body mass index.....	55
Table 2 - Characterization of women sample according to the group.....	57
Table 3 - Linear regression model used to obtain leptin level predictors	59

Tabelas do Artigo em Português

Tabela 1 - Classificação do Índice de Massa Corporal.....	70
Tabela 2 - Caracterização da amostra de mulheres conforme o grupo	73
Tabela 3 - Modelo de regressão linear utilizado na obtenção dos preditores para níveis de Leptina	75

LISTA DE FIGURAS

Figuras da Introdução

Figura 1 - Ação de hormônios na reprodução	28
Figura 2 - Balanço energético e apetite	29
Figura 3 - Disponibilidade abundante de combustíveis metabólicos oxidáveis e comportamento reprodutivo	32
Figura 4 - Disponibilidade baixa de combustíveis metabólicos oxidáveis e comportamento reprodutivo	33
Figura 5 - Outros efeitos de baixa disponibilidade de combustíveis metabólicos oxidáveis	34

Figuras do artigo em inglês

Figure 1 - Positive linear correlation between leptin and hip circumference in fertile and infertile women (linear regression analysis)	58
Figure 2 - Positive linear correlation between leptin and waist circumference in fertile and infertile women (linear regression analysis)	58
Figure 3 - Positive linear correlation between leptin BMI in fertile and infertile women (linear regression analysis)	59

Figuras do artigo em português

Figura 1- Correlação linear positiva entre Leptina e circunferência de quadril em mulheres férteis e inférteis (análise de regressão linear)	74
Figura 2 - Correlação linear positiva entre a Leptina e a circunferência de cintura em mulheres férteis e inférteis (análise de regressão linear)	74
Figura 3 - Correlação linear positiva entre a Leptina e o IMC em mulheres férteis e inférteis (análise de regressão linear)	75

LISTA DE QUADROS E GRÁFICOS

Quadros da Introdução

Quadro 1 – Causas Associadas aos Fatores de Infertilidade Feminina.....	17
Quadro 2 – Causas Associadas aos Fatores de Infertilidade Masculina	18

Gráfico do artigo em inglês

Graph 1 – Leptin plasmatic levels in fertile and infertile women.....	57
---	----

Gráfico do artigo em português

Gráfico 1 – Níveis Plasmáticos de Leptina em Mulheres Férteis e Inférteis	72
---	----

1 INTRODUÇÃO

A função reprodutiva normal é um processo complexo significativamente afetado pelo estado nutricional. O efeito da má nutrição na fertilidade tem sido notado em populações inteiras em consequência de guerras, fome ou desnutrição severa devido à pobre condição econômica.

O efeito da privação alimentar severa na reprodução, em consequência da IIª Guerra Mundial, tem sido estudado na Rússia, Alemanha e Países Baixos. Houve aumento significativo na incidência de amenorréia, um mecanismo de proteção que reflete a necessidade de conservar energia durante restrição calórica severa (1). Aborto espontâneo, má formação congênita, mortalidade perinatal e baixo peso ao nascer foram todos associados à concepção durante escassez alimentar (2). A privação de alimentos durante o segundo e terceiro trimestres resulta em diminuição do peso médio e comprimento ao nascer (3). Assim que as condições de vida melhoraram e o consumo energético voltou à normalidade, a função reprodutiva foi restaurada.

Nos dias de hoje, os órgãos de promoção à Saúde têm de lidar com múltiplas variáveis que afetam o estado nutricional, e não somente com a restrição alimentar em mulheres em idade reprodutiva. Estado sócio-econômico, nível educacional, idade, estilo de vida, estado de saúde, identidade cultural podem influenciar a nutrição humana e a direção para a correta intervenção nutricional.

A associação da nutrição com a resposta hormonal que modula a fertilidade permanece indefinida. A manutenção de um equilíbrio metabólico entre a disponibilidade das fontes metabólicas, tanto externas (ingestão alimentar) quanto internas (reserva de gordura corporal), e as necessidades metabólicas necessárias para suprir o gasto energético seria o fator essencial para manter a função gonadotrófica-ovariana.

Os fatores ambientais que influenciam a fertilidade humana podem ser classificados em categorias, como físicos, químicos, biológicos, comportamentais e sócio-econômicos. Em muitas situações, múltiplos fatores podem alterar a função reprodutiva (4). Entre os fatores ambientais internos e externos relacionados a ciclos de fertilidade anormal em mulheres, podemos citar o estresse psicossocial, baixo peso ou reduzida massa de gordura corporal, baixa ingestão calórica, desordens alimentares e hiperatividade. Todos estes fatores teriam um mecanismo de ação comum a uma disfunção do eixo hipotálamo-hipófise (5).

Estudos que avaliam estresse psicológico, ansiedade, distúrbio do pânico e depressão mostraram alterações temporárias do ciclo menstrual, como atrasos menstruais. Em estudos com pacientes com ansiedade crônica e distúrbios do pânico não se encontrou amenorréia, e apenas 30-50% das pacientes com bulimia apresentaram essa intercorrência (4,6,7). No

entanto, estudos demonstram que a bulimia está rigorosamente relacionada às mudanças morfológicas ovarianas (6,8). As mulheres anoréticas desnutridas, por sua vez, são freqüentemente amenorréicas (7). Isso indica que o estresse metabólico ou nutricional é o fator essencial determinante, embora o estresse psicológico possa representar um fator adjunto.

O interesse nos efeitos potenciais da quantidade de gordura corporal na fertilidade foi estimulado por um relatório publicado em 1974, o qual levantou a hipótese de que o início e a regularidade da função menstrual necessitariam da manutenção do peso e taxa de gordura dentro dos padrões de normalidade (9). Uma perda na escala de 10-15% do peso normal em relação à altura representa uma perda de aproximadamente um terço da gordura corporal e pode resultar em função menstrual anormal (10). A taxa de gordura corporal excessiva ou abaixo do normal parece estar diretamente relacionada à infertilidade (11). Uma pesquisa realizada por Friedman e Kim (12) descobriu que 18% das mulheres estudadas tinham disfunção ovulatória, destas 89% com peso 150% acima do normal.

Em se tratando de hormônios, o estrogênio é produzido pelo tecido adiposo, assim como pelos ovários, e a extensão de gordura corporal pode influenciar a produção de diferentes formas de estrógenos (1). Quantidades baixas de gordura corporal podem prejudicar o metabolismo de estrógenos, aumentando a conversão de estrogênio biologicamente ativo em catecolestrogênios relativamente inativos. A conversão do estradiol (E) em seu catecolestrogênio rende 2-hidroxiestrone, um metabólito inativo. Este mecanismo pode ser responsável por interferir no papel do estradiol nas interações pituitária-ovarianas. Sem o rápido aumento do estradiol necessário para ocorrer a liberação de LH, necessário para expulsão do ovo e formação do corpo lúteo, pode ocorrer perda da ovulação (10).

A presença de baixo peso ou massa de gordura corporal diminuída não são os únicos fatores envolvidos na disfunção do ciclo menstrual relacionada à nutrição. Isto é demonstrado pelo fato de mulheres com baixo peso corporal apresentarem ciclo menstrual normal, enquanto mulheres anoréticas não reassumem a função menstrual normal mesmo após um período de até um ano de restauração do peso em padrões normais (13,14). Uma possível justificativa seria o fato de dietas hipocalóricas causarem irregularidades no ciclo menstrual na maioria das mulheres, mesmo que mantenham o seu peso normal (14). Considerando-se mulheres com uma mesma média de índice de massa corporal (IMC), apenas 27% ovulam se estão sob dieta hipocalórica, enquanto 100% daquelas não submetidas à mesma dieta têm seu ciclo ovulatório normal (15).

Entre outros fatores transitórios que contribuem para a disfunção hipotálamo-ovariana, está a intensidade do exercício físico. Este, juntamente com o estresse, a diminuição da gordura corporal e a dieta hipocalórica, constitui o estresse nutricional, que tem papel

essencial na disfunção menstrual observada em atletas. Nem sempre a perda de peso é observada, pois o desequilíbrio calórico/nutricional pode resultar na redução na taxa metabólica basal (TMB) como resposta adaptativa à dieta restrita em calorias. Portanto, a inadequação nutricional e/ou desequilíbrio energético associados ao exercício excessivo podem contribuir para a amenorréia hipogonadotrófica vista em atletas (5,14).

Em atletas amenorréicas, o padrão de hormônios esteróides não mostra elevação fásica mensal, o que indica a supressão ovariana extrema, com anovulação e nenhum desenvolvimento folicular ou luteal (16). Muitas mulheres que praticam atividade física regularmente, seja por recreação, controle de peso ou fitness, apresentam disfunção ovulatória assintomática, demonstrada por fase folicular prolongada, fase luteal encurtada e diminuição nos níveis de progesterona (17).

É bem aceito o fato de que modificações agudas no balanço de energia modulam o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Demonstrou-se que, em várias espécies, o jejum e a restrição calórica causam a supressão da secreção pulsátil de LH (hormônio luteinizante), via inibição de liberação de hormônios gonadotrópicos. Este mecanismo provavelmente previne que a energia seja gasta pela reprodução. Em contraste, o excessivo estoque de energia e obesidade interferem na correta regulação do eixo reprodutivo (18).

A identificação da Leptina e de seus receptores, através de estudos feitos em modelos animais, tem se concentrado no papel desta molécula na reprodução, revelando novos aspectos da relação entre estoques de energia, tecido adiposo e função reprodutiva (18).

Demonstrou-se que os níveis de Leptina são maiores em mulheres do que em homens (19).

As modificações sexuais, que alteram os níveis de Leptina, manifestam-se no segundo estágio da puberdade e estes níveis estendem-se sem modificações na vida adulta (20).

A maior deposição de gordura em mulheres poderia explicar parcialmente a diferença nos níveis de Leptina entre os dois sexos (21). No entanto, níveis séricos de Leptina significativamente menores são encontrados em homens com mesmo índice de massa corporal que as mulheres. O baixo nível de Leptina em homens tem sido atribuído aos altos níveis séricos de testosterona (20,22,23).

Assim, o presente estudo o propósito de determinar a relação entre Leptina e composição corporal em mulheres inférteis do Setor de Reprodução Assistida do HCPA.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INFERTILIDADE

A infertilidade conjugal pode ser considerada uma condição comum fortemente associada a aspectos psicológicos, econômicos, demográficos e médicos.

Uma definição bastante arraigada no meio especializado é a de que esta condição pode ser confirmada em um casal em que não se observa gestação após pelo menos um ano de relacionamento sexual regular e na ausência do uso de qualquer método anticoncepcional (24).

Desta maneira é possível concluir que, após o período de um ano de tentativas, cerca de 90% dos casais obterão uma gestação, enquanto 7-10% representarão uma população que experimentará alguma forma de infertilidade (25). Todavia observa-se uma variação bastante significativa na incidência da infertilidade em diferentes regiões e países (26), sem dúvida conseqüência dos diferentes costumes e condições sociais.

Para a compreensão da etiologia da infertilidade feminina, torna-se necessário o conhecimento de uma série de eventos complexos e inter-relacionados da fisiologia reprodutiva, dos quais dependem a fertilização, a implantação e a manutenção da gravidez até a fase em que o conceito apresenta condições plenas para a vida extra-uterina.

A partir do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, com seus mecanismos de comunicação e interação neurendócrinas baseados na estimulação e inibição de seus neurotransmissores e hormônios, iniciam-se os fenômenos que culminarão no amadurecimento sexual feminino e na capacidade de desencadear ciclicamente o mecanismo ovulatório e seus fenômenos correlatos (preparo endometrial, tunelização da cérvix uterina e muco cervical receptivo).

O mecanismo ovulatório, em resposta a níveis progressivamente maiores da gonadotrofina folículo-estimulante hipofisária (FSH), desencadeará no ovário a foliculogênese, caracterizada por concentração plasmática crescente de estradiol até o período peri-ovulatório, conseqüente proliferação endometrial (fase folicular ou proliferativa) e produção de muco cervical adequado à migração espermática até o sítio de fertilização. A eclosão folicular com expulsão de um oócito maduro (ovulação) será observada como conseqüência da secreção em pico da gonadotrofina luteotrófica hipofisária (LH) em resposta ao máximo nível sérico de estradiol. Posteriormente, no período pós-ovulatório (fase lútea ou secretora), deverá existir uma concentração suficiente de progesterona, fundamental ao preparo final do endométrio para a implantação embrionária e manutenção da gravidez.

As trompas deverão estar permeáveis, móveis e metabolicamente saudáveis para permitir o transporte do espermatozóide e do óvulo até o sítio de fertilização e

posteriormente garantir a nutrição do zigoto resultante e seu transporte em direção à cavidade uterina.

Finalmente, o útero deverá apresentar capacidade cavitária e revestimento endometrial normais para interagir com o pré-embrião (blastocisto), permitindo assim sua implantação e posterior desenvolvimento até a fase final da gravidez.

Constituem-se, portanto, causas de infertilidade, todos os fatores que possam interferir adversamente, de maneira absoluta ou relativa, nos mecanismos da fisiologia reprodutiva feminina (Quadro 1).

Quadro 1 – Causas Associadas aos Fatores de Infertilidade Feminina

Fator Uterino Cervical

Vulvovaginites, cervicites, estenoses, tumores (ex: pólipos), malformações cervicais, etc.

Fator Uterino Corporal

Malformações, infecções, tumores (miomas, pólipos e outros), sinéquias (ex: Síndrome de Asherman), etc.

Fator Tubário ou Tuboperitoneal

Infecções (tuberculose, clamídia, blenorragia etc.) e suas seqüelas (obstruções, aderências, hidrossalpínges etc.), iatrogênia (salpingotripsias ou salpingectomias), endometriose e outras (ex: pelviperitonites, apendicites)

Fator Ovulatório

Distúrbios centrais (ex: hipogonadismo, hiperprolactnemia, tumores)

Distúrbios periféricos (ex: falência ovariana precoce, tumores)

Distúrbios mistos (ex: síndrome de ovários policísticos)

Fator Coital

Vaginismo, estenoses, impotência, etc.

Devido à grande contribuição do fator masculino para a infertilidade, é importante averiguar sua etiologia. A determinação de estimativas das causas da infertilidade é complexa (cerca de 50% das causas de infertilidade são masculinas). Em um grande estudo, a Organização Mundial de Saúde determinou que metade dos homens em investigação possuía padrões espermáticos normais, ou seja, não apresentava uma causa identificável. Um quarto apresentava alteração espermática sem causa identificável, e o outro quarto possuía alteração espermática com causa identificável (27). Tradicionalmente, a infertilidade masculina é considerada uma condição de difícil tratamento, pelo fato de não ser uma entidade única, mas refletir diversas condições patológicas, dificultando uma estratégia única de tratamento. Mesmo com o avanço dos métodos diagnósticos, hoje em dia apenas 40% das causas de infertilidade podem ser reconhecidas, mas os avanços nos

diagnósticos genéticos – como a pesquisa de microdeleções – parecem apontar para uma diminuição no número de pacientes com diagnóstico etiológico indefinido (24).

Há diversas áreas a discutir na avaliação da fertilidade masculina. Essas áreas podem ser definidas como sexualidade, virilização, fertilização e efeitos externos. Os efeitos externos podem ser idade, peso, exposição a fatores tóxicos, e doenças sistêmicas.

Constituem-se, portanto, causas de infertilidade, todos os fatores que possam prejudicar, de maneira absoluta ou relativa, os mecanismos da fisiologia reprodutiva masculina (Quadro 2).

Quadro 2 – Causas Associadas aos Fatores de Infertilidade Masculina

Criptorquidia - Trauma Testicular

Cirurgias

Pós prostatectomia transuretral, hérnia inguinal, dissecação retroperitoneal etc.

Patologias Sistêmicas

Talassemia (deposição de ferro na Hipófise e testículos), câncer testicular, hipogonadismo hipogonadotrófico (Síndrome de Kallman, adenomas de hipófise, craniofaringiomas etc.)

Substâncias Tóxicas

Sulfasalazina (doença inflamatória intestinal), esteróides anabolizantes, agentes quimioterápicos (ciclofosfamida, procarbazina e cisplatina), alguns pesticidas, éteres e metais etc.

Varicocele

Vaginismo, estenoses, impotência etc.

Alterações Genéticas

Microdeleções do cromossomo Y e alterações de cariótipo (Síndrome de Klinefelter)

Fatores Imunológicos

Anticorpos, doenças sexualmente transmissíveis

Problemas de Sexualidade

Impotência e disfunção sexual

2.2 ANTROPOMETRIA E REPRODUÇÃO

2.2.1 Adiposidade: distribuição e reprodução

A obesidade é uma condição cara e cada vez mais comum em todas as sociedades, e resulta de uma combinação de fatores genéticos e ambientais. O consumo de caloria total, especialmente da gordura, diminuiu quando aumentou a incidência de obesidade. Há dados que demonstram que, com a atividade física reduzida e um estilo de vida mais sedentário há

certamente um aumento na proporção de pessoas com problemas de peso. A obesidade está associada a um aumento nos riscos de saúde, como diabetes mellitus, osteoartrite, doença cardiovascular, apnéia do sono, câncer de mama e útero e desordens reprodutivas (28).

O tecido adiposo é um local importante de produção e metabolismo de esteróides ativos e por converter andrógenos em estrógenos (atividade da aromatase) e estradiol em estrona e dehidroepiandrosterona (DHEA) em androstenediol (atividade da 17 β -hidroxiesteróide desidrogenase - 17 β HSD) (29).

As mulheres necessitam de uma quantidade de gordura mínima para a eficiência reprodutiva na gravidez, assim como a gordura em excesso pode conduzir a anormalidades menstruais, infertilidade, abortos e dificuldades na reprodução assistida. As obesas, especialmente aquelas com obesidade situada na região abdominal, possuem resistência à insulina (IR), hiperinsulinemia, hiperandrogenemia, aumento da aromatização periférica de andrógenos e estrógenos, secreção alterada de gonadotrofinas, diminuição de SHBG (globulina ligadora dos esteróides sexuais), do hormônio do crescimento (GH) e da proteína transportadora de IGF (IGFBP), níveis aumentados de Leptina e alteração da neuroregulação do eixo hipotalâmico-pituitário-gonadal. Esses foram considerados alguns dos eventos associados à interrupção no processo ovulatório (30).

Os métodos clínicos geralmente usados na avaliação e classificação corporal são índice de massa corporal IMC (kg/altura ao quadrado) (31) e o índice cintura/quadril (32). Para a classificação da taxa de gordura corporal, foi utilizado Lohman (33).

Muitos dados sugerem respostas hormonais e metabólicas diferentes, dependendo do tipo de distribuição da gordura. Mulheres com gordura central têm níveis elevados de LH, androstenediona, estrona, insulina, triglicerídeos, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e apolipoproteína B e níveis mais baixos de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Estes níveis alterados causam distúrbios significativos no eixo HPG (eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal) normal e têm efeitos ginecológicos diferentes. Norman e outros³⁴ relataram que RCQ (razão cintura-quadril) elevada está associada a grandes distúrbios hormonais, particularmente insulina. O estudo de Iowa da Saúde da Mulher também indicou que altos valores de RCQ estavam associados a mais anormalidades menstruais e prevalência de infertilidade (29).

2.2.2 Balanço energético, estrógenos e andrógenos circulantes

Os esteróides gonadais são amplamente reconhecidos por influenciar o consumo alimentar e o peso corporal. Os andrógenos normalmente são conhecidos como agentes

“anabólicos” que aumentam o consumo alimentar e a massa magra. No entanto, os estrógenos são “catabólicos” e diminuem o consumo alimentar e peso corporal.

A aromatização da testosterona a estrógeno pelo tecido adiposo e muscular é a fonte principal da produção de estrogênio ovário não dependente (35). Assim, pode-se esperar que o aumento da massa adiposa resulte na maior conversão de androgênio em estrogênio em proporção à massa gorda. Além disso, a perda de peso conduz à normalização de níveis de estrogênio em homens obesos (36). Mesmo nas mulheres com função ovariana intacta, porém, os níveis circulantes de estrógenos diminuem em resposta ao jejum ou restrição alimentar (37).

Atribuindo-se aos andrógenos a função de agentes anabólicos, poderia-se antecipar que os níveis de andrógenos seriam negativamente correlacionados com a quantidade de gordura. Embora a testosterona total plasmática correlacione-se com o IMC, uma medida mais relevante da testosterona circulante é o nível de testosterona livre (FT) (38).

Entretanto, a observação de que os níveis de testosterona diminuem em resposta à limitação de energia sugere que a inibição da capacidade reprodutiva é a regra durante épocas de escassez de combustível. Essa adaptação parece apropriada sob uma perspectiva teológica, não fornecendo a energia adicional necessária para sustentar o processo reprodutivo.

2.2.3 Andrógenos em mulheres obesas

Sabe-se que o aumento do peso corporal e tecido adiposo está associado a várias anormalidades no balanço de esteróides sexuais em mulheres pré e pós- menopáusicas. Tais alterações envolvem andrógenos e estrógenos e, ao todo, sua proteína carregadora, a SHBG (globulina ligadora dos esteróides sexuais), que se liga à testosterona e a dihidrotestosterona com afinidade elevada e aos estrógenos com afinidade mais baixa. As mudanças em concentrações de SHBG conduzem a uma alteração na entrega dos andrógenos e estrógenos aos tecidos do alvo. Os níveis sanguíneos de SHBG são regulados por uma série de fatores que atuam como agentes estimulantes, incluindo estrógenos, iodotironina, e o hormônio do crescimento (GH) e andrógenos e a insulina como fatores inibidores (39).

A distribuição da gordura corporal mostrou-se bastante afetada por concentrações de SHBG em mulheres obesas. As mulheres com obesidade central geralmente têm concentrações mais baixas de SHBG, em comparação àquelas de mesma idade e peso, porém com obesidade periférica (40). A obesidade afeta também o metabolismo dos andrógenos não ligados a SHBG. De fato, as taxas da produção e clearance de DHEA e de androstenediona aumentam igualmente na obesidade (41). O padrão da distribuição da

gordura corporal pode regular a produção e o metabolismo de andrógenos a uma extensão significativa. As mulheres pré-menopáusicas com obesidade central possuem taxas mais elevadas de produção de testosterona do que aquelas com obesidade periférica (42). As taxas de clearance metabólico de testosterona e de dihidrotestosterona são significativamente mais elevadas nas mulheres com obesidade central comparada à periférica. Devido à redução maior de concentrações de SHBG, a porcentagem de fração livre de testosterona tende a ser mais elevada em mulheres com obesidade central do que naquelas com obesidade periférica (43,44).

Há uma correlação inversa entre a relação cintura-quadril (ou os outros índices de distribuição de gordura de corpo) e a testosterona ou concentrações de SHBG, e o mesmo ocorre em relação aos valores de índice da massa corporal (IMC) (43). Conseqüentemente, uma condição de “hipoandrogenismo funcional relativo” parece estar associada ao fenótipo de gordura abdominal em mulheres.

2.2.4 Consumo alimentar, estrógenos e andrógenos

Os efeitos do estrógeno no consumo alimentar são em muitos aspectos similares aos da Leptina. Uma situação na qual as suas habilidades de reduzir o consumo alimentar diferem é que o estrógeno, ao contrário da Leptina, tem sido associado ao mal-estar relacionado a aversões alimentares (45). Em relação ao consistente papel de agente anabólico, a deficiência de andrógenos induzida por orquiectomia em ratos conduz a uma redução permanente de 10% a de 15% na ingestão alimentar, a qual é revertida pela recolocação de testosterona (46). Uma característica peculiar dos efeitos dos andrógenos relacionados à alimentação é a sua característica dose-dependente. Assim, a administração de andrógenos em baixas doses aumenta o consumo alimentar em ratos, visto que o contrário ocorre em doses mais elevadas.

2.2.5 Obesidade e ciclo menstrual

As mulheres obesas, especialmente aquelas com obesidade central, têm significativa resistência insulínica e hiperinsulinemia, junto com hiperandrogenemia, aromatização periférica de andrógenos a estrógenos aumentada, secreção de gonadotrofinas alterada, diminuição de SHBG, GH e IGF1 (proteína transportadora de IGF), e maiores níveis de Leptina. Esses fatores foram considerados como algumas das ligações na seqüência de eventos que causam a interrupção do processo ovulatório. Obesidade, obesidade central e resistência à insulina estão fortemente associadas a sua etiologia, e a redução destes fatores de risco deve ser o foco central do tratamento. A perda de peso a curto prazo obteve

um bom desempenho consistente na redução da resistência insulínica e na restauração da ovulação e da fertilidade (47,48).

O estudo de Mitchell e Rogers (49) relatou que distúrbios menstruais eram quatro vezes mais comuns em mulheres obesas do que naquelas com peso normal. Quarenta por cento das mulheres amenorréicas eram obesas. Hartz e outros (50) estudaram 26.638 mulheres, nas quais notaram que a anovulação estava fortemente associada à obesidade. As mulheres muito obesas tiveram uma taxa de distúrbio menstrual 3 vezes maior do que mulheres com peso normal. Além disso, a obesidade em jovens estava positivamente relacionada a irregularidades menstruais, e a obesidade estava correlacionada com ciclos longos e anormais, fluxo mais intenso e hirsutismo. Lake e outros (51) estudaram quase 5800 mulheres nascidas em 1958 e vistas nas idades 7, 11, 16, 23 e 33 anos. A obesidade na infância e próxima dos 20 anos aumentou o risco de problemas menstruais (OR 1.75 e 1.59, respectivamente). As mulheres que tiveram sobrepeso até os 23 anos tinham 1,32 vezes mais probabilidade de ter dificuldades menstruais.

Esta é uma das razões principais por que a simples perda de peso em torno de 5% resulta na melhoria dos distúrbios endócrinos e no retorno dos ciclos ovulatórios espontâneos.

2.2.6 Obesidade e infertilidade

As mulheres obesas inférteis possuem altas concentrações de andrógenos plasmáticos, insulina e LH e menores níveis de SHBG quando comparadas a mulheres com peso normal (48). Grodstein e outros (52) mostraram que a infertilidade anovulatória em 1880 mulheres inférteis e em 4023 controles era mais elevada naquelas com um IMC maior que 26,9 kg/m².

A hiperinsulinemia demonstrou ser uma ligação-chave na geração dos sintomas da Síndrome dos Ovários Policísticos, como por exemplo a infertilidade anovulatória, obesidade e oleosidade da pele induzidas pelo hiperandrogenismo. É possível regredir esses sintomas reduzindo-se a hiperinsulinemia (52).

2.2.7 Obesidade e resposta ao tratamento de infertilidade

Obesidade, hiperandrogenemia e resistência à insulina são fatores importantes em pacientes resistentes a clomifeno. A maioria dos estudos mostra evidências conclusivas de que o IMC crescente está associado a uma exigência aumentada para o citrato de clomifeno. Na maioria dessas pacientes, altas doses de clomifeno (acima de 200mg/dia) foram necessárias para assegurar a ovulação nas mulheres mais pesadas (53,54). A

resposta reprodutiva ao tratamento da dieta e da infertilidade está relacionada à gordura central, conforme relatado por Clark e outros (55).

Recentemente, Wang e outros (56) mostraram que a IUI (inseminação intra-uterina) com gonadotrofinas nas mulheres com ciclos menstruais normais e infertilidade de causa desconhecida fornece taxas similares de gravidez até IMC 30 kg/m², mas quando o IMC é >35 kg/m², há taxas mais baixas de gravidez. Além disso, os resultados de FIV (fertilização in vitro) são menos promissores em mulheres mais obesas (55).

2.2.8 Efeito da perda de peso na menstruação e infertilidade

A perda do peso deve ser promovida como uma opção inicial do tratamento para mulheres obesas com infertilidade. A perda gradual de peso é atingida com mais facilidade mediante um plano alimentar, associado a uma melhor programação de exercícios que possa ser mantida durante longos períodos. A probabilidade de manter a perda do peso aumenta quando a dieta é combinada com o exercício regular, terapia de comportamento cognitivo e um ambiente de suporte do grupo. A adoção destes princípios de cuidado à saúde pode conseqüentemente ajudar no tratamento da infertilidade relacionada à obesidade (53,54,57).

A perda do peso melhora os parâmetros clínicos e bioquímicos que estão alterados devido a problemas de peso. Muitos estudos têm sido realizados para mostrar que há uma redução em andrógenos plasmáticos e retorno do ciclo menstrual quando há dieta adequada(58,59).

O estudo publicado por Clark e outros (55) mostrou como a regularidade menstrual e a gestação podem ser restauradas pelo exercício e aconselhamento nutricional sem ênfase em baixas calorias. Mais de 90% das mulheres obesas oligomenorréicas mostraram um grande melhora no padrão menstrual, com taxas elevadas de concepção espontânea e menores taxas de aborto do que antes do tratamento.

Mandakini (30) observou que mulheres em um programa de perda de peso apresentaram o retorno da fertilidade e da responsividade ao citrato de clomifeno, o que está associado à melhora na resistência insulínica e à queda na adiposidade central. Em um grupo de mulheres anovulatórias que voltaram a ovular mediante exercício e reeducação alimentar, houve diminuição da circunferência da cintura, gordura central, níveis de LH e de insulina. Várias conseguiram gravidez espontânea e as que precisaram de indução da ovulação tiveram melhores resultados no ciclo do que nos anteriores.

2.3 EQUILÍBRIO ENERGÉTICO E REPRODUÇÃO

Alguns mecanismos que poderiam modular a ligação entre ingestão dietética/estado nutricional estão sendo levantados, conforme descritos a seguir (3):

1. Influência das fontes metabólicas na reprodução

Em modelos animais, a ovulação depende da disponibilidade de fontes oxidativas, como glicose e ácidos graxos (FFAs). A influência da disponibilidade geral de fontes metabólicas, mais do que de alguma fonte específica, tem sido determinada em estudos em hamsters, mostrando a necessidade de bloqueio farmacológico simultâneo da oxidação de ácidos graxos e da glicose para inibir a reprodução (60). Portanto, a disponibilidade das fontes metabólicas geradas pelas reservas endógenas pode afetar a secreção de hormônios gonadotróficos por ação a nível de sistema nervoso central e por modular a secreção de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (61).

2. Hormônios periféricos - ligação entre estado nutricional e reprodução.

Alguns hormônios funcionam como sinais periféricos e levam informações sobre o metabolismo energético, as quais são captadas e analisadas pelo cérebro, determinando o controle da secreção de GnRH (5).

Insulina: permanece o conceito de que a insulina fornece um importante sinal ao cérebro e às estruturas hipotalâmicas em resposta a mudanças na ingestão alimentar e composição corporal (62). A insulina pode agir no sistema nervoso central (SNC) modulando a atividade dos neurônios hipotalâmicos ou em nível pituitário, por aumento na sensibilidade dos gonadotrópicos ao GnRH. Assim, desnutrição, desordens alimentares e composição corporal podem modificar a secreção de gonadotrofinas através da insulina e da IGF-1. Um estudo em anoréticas encontrou valores de insulina e IGF-1 baixos durante a privação nutricional, os quais foram restaurados com a realimentação (63).

Leptina: exerce influência na ingestão alimentar, gasto energético, peso corpóreo e função neuroendócrina através de ações nos alvos neuronais no hipotálamo (64). Postula-se que a Leptina possa ter um papel autócrino/parácrino na implantação em humanos e na placenta (65). Estudos encontraram relação direta dos níveis plasmáticos de Leptina com a porcentagem de gordura corporal(21,66,67). Portanto, é possível que a Leptina seja uma das ligações periféricas entre o estado nutricional e o processo que regula a função reprodutiva (5). A descoberta de um receptor mRNA no cérebro e no ovário (68) sugere que a Leptina pode agir em nível central, alterando a função hipotalâmica-hipofisária e também promover a função ovariana através de uma ação direta no folículo ovariano. Desta forma, sabe-se que a Leptina é um sinal periférico relacionado à função reprodutiva (69).

Os efeitos da Leptina como potente regulador da ingestão alimentar e reprodução podem ocorrer através da regulação mediada pelo receptor neuropeptídeo protéico hipotalâmico Y (NPY).

NPY: é um dos mais abundantes peptídeos no cérebro e encontrado em maior concentração no Hipotálamo (70-72). As células corporais que sintetizam NPY estão localizadas primeiramente no ARC (Núcleo Arqueado) com projeções principais na MPOA (área preóptica medial), no ME (eminência mediana) e no núcleo paraventricular (PVN). O NPY controla muitas funções do cérebro, incluindo o regulamento de GnRH e de secreção de gonadotrofinas, a estimulação do consumo alimentar e o controle da atividade autonômica do sistema nervoso. A atividade do NPY é modulada por esteróides gonadais. O NPY, além de ser um potente estimulador da ingestão alimentar (está presente em altas concentrações em animais com restrição calórica), é um inibidor da secreção de hormônio luteinizante (LH) em algumas espécies (73).

Substrato 2 do receptor de insulina (IRS-2): BURKS, 2000 (74) demonstrou que a deleção do IRS-2, um componente da cascata insulina/insulina similar ao fator de crescimento, causa infertilidade feminina. Ratas com falta de IRS-2 têm ovários pequenos e anovulatórios, com número reduzido de folículos. A concentração plasmática de LH, prolactina e esteróides sexuais é baixa nesses animais. Fêmeas sem IRS-2 têm um aumento da ingestão alimentar e obesidade, apesar de elevados níveis de Leptina.

Peptídeo YY3-36: é um peptídeo derivado do TGI (trato gastrointestinal), identificado pela primeira vez em 1980 (75). Entretanto, apenas recentemente mostrou-se que o PYY3-36 tem um efeito regulatório no apetite (76). É produzido pelos intestinos em resposta à presença do alimento, e foi comprovado que inibe o apetite e o consumo alimentar. Similar à Leptina, este peptídeo demonstrou atravessar a barreira hemato-encefálica e agir no ARC no hipotálamo, estimulando os neurônios que criam a sensação de saciedade, e inibir os neurônios que estimulam o comportamento de ingestão alimentar (76).

Em um estudo recente, o efeito da infusão de PYY3-36 no apetite e na ingestão alimentar em 12 sujeitos obesos e 12 magros demonstrou que, ao contrário da Leptina, não havia evidência da resistência a PYY3-36 nos sujeitos obesos (77). Os níveis endógenos de PYY3-36 eram baixos nos sujeitos obesos, sugerindo que a deficiência de PYY3-36 pode contribuir para a patogênese da obesidade, e infusão de PYY3-36 diminuiu significativamente o consumo alimentar cumulativo de 24 horas em sujeitos obesos e magros. Xiao e outros (78) demonstraram a presença de YY1-36 e de PYY3-36 na placenta humana e nas membranas fetais. São necessários estudos futuros para esclarecer o papel do PYY3-36 em eventos reprodutivos.

Adiponectina: é um hormônio derivado dos adipócitos, e sua secreção e expressão são reduzidas na obesidade e no diabetes tipo 2. Tem-se observado que a adiponectina

diminui a resistência à insulina, principalmente pela diminuição dos triglicerídeos nos músculos e fígado em camundongos obesos, e seu efeito resulta no aumento da expressão de moléculas envolvidas, tanto na combustão de ácidos graxos como na dissipação de energia no músculo (79). Em um estudo isolado, uma única injeção de adiponectina diminuiu os níveis de glicose sanguínea em camundongos obesos e diabéticos, e seu efeito não foi obtido por aumento nos níveis de insulina (80). Analisados em conjunto, esses resultados indicam que a reposição de adiponectina talvez traga uma nova modalidade de tratamento para a resistência à insulina e o diabetes tipo 2.

Resistina: A resistina é uma proteína com propriedades pró-inflamatórias, como TNF- α (Fator de necrose tumoral α) e IL-6(interleucina-6), secretada por monócitos e adipócitos (81,82). Ela promove resistência insulínica por meio de aumento da glicogênese hepática, tendo um rápido efeito sobre esse tecido (83). Outros estudos também encontraram, in vivo, efeitos da administração e neutralização da resistina na tolerância à glicose nos tecidos musculares esquelético e adiposo, indicando ação da mesma também nesses tecidos, por meio da modulação negativa de uma ou mais etapas de sinalização da insulina para captação de glicose (84,85). Apesar de expressa e secretada em indivíduos magros, níveis elevados de resistina são associados à obesidade tanto em humanos como em modelos animais (86). Sua expressão também pode aumentar em até 20% em populações com DM2 (Diabetes Mellitus) em comparação a não-DM2 (85). Em relação aos depósitos específicos de gordura corporal, expressões 2 a 3 vezes maiores de resistina são encontradas no tecido adiposo visceral, seguido dos subcutâneos abdominal e subcutâneo glúteo-femural, podendo o aumento da expressão de resistina ser um importante elo entre obesidade abdominal e DM2. Além disso, sua expressão é 3 vezes maior nos pré-adipócitos quando comparada aos adipócitos maduros, funcionando também como potencial regulador da adipogênese (81).

Grelina: é um novo hormônio gastrointestinal identificado no estômago do rato, em 1999, por Kojima et al. (87-89). O nome grelina origina-se da palavra *ghre* (em inglês, corresponde à palavra *grow*, que significa crescimento) (87). Uma das principais funções desse peptídeo é o aumento da secreção do hormônio do crescimento (GH) (90). É também produzido em menores quantidades no sistema nervoso central, rins, placenta e coração (87).

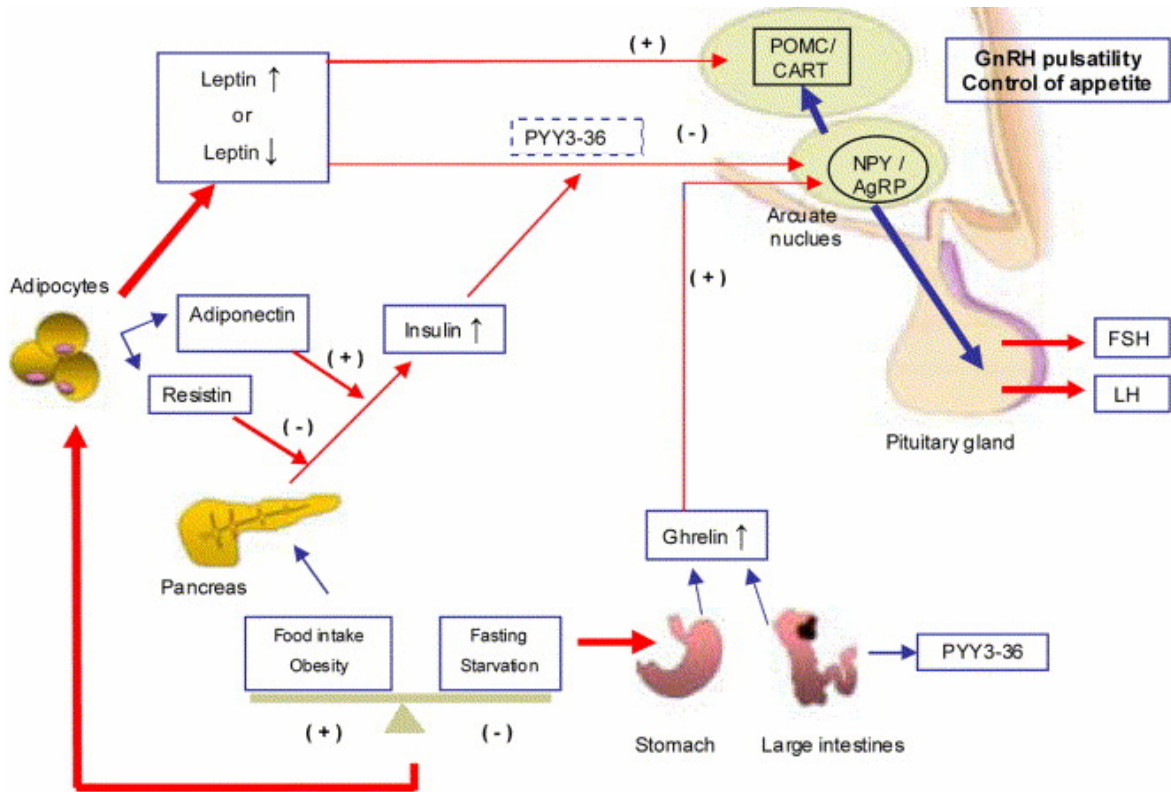
O hormônio grelina é um potente estimulador da liberação de GH, nas células somatotróficas da hipófise e do hipotálamo, sendo o ligante endógeno para o receptor secretagogo de GH (GHS-R). Assim, a descoberta da grelina permitiu o aparecimento de um novo sistema regulatório para a secreção de GH, já que sua ação estimulante para a liberação de GH é mais acentuada em humanos do que em animais e é feita a partir da ativação do receptor GHS do tipo 1 (GHS1a) (87,91). Além de sua ação como liberador de

GH, a grelina possui outras importantes atividades, incluindo a estimulação da secreção lactotrófica e corticotrófica, atividade orexígena acoplada ao controle do gasto energético, controle da secreção ácida e da motilidade gástrica, influência sobre a função endócrina pancreática e metabolismo da glicose e ainda ações cardiovasculares e efeitos antiproliferativos em células neoplásicas (92,93).

Estudos em modelos animais indicam que esse hormônio desempenha importante papel na sinalização dos centros hipotalâmicos que regulam a ingestão alimentar e o balanço energético (94). Estudos recentes com roedores sugerem que a grelina, administrada de maneira periférica ou central, independentemente do GH, diminui a oxidação das gorduras e aumenta a ingestão alimentar e a adiposidade (95). Assim, esse hormônio parece estar envolvido no estímulo para iniciar uma refeição. Sabe-se ainda que os níveis de grelina são influenciados por mudanças agudas e crônicas no estado nutricional, encontrando-se elevados em estado de anorexia nervosa e reduzidos na obesidade (96).

Leptina e a grelina são dois dos sinais aferentes primários na integração da homeostase – peso corporal (97,98). Atualmente os dados disponíveis sugerem que especialmente Leptina e grelina, e possivelmente outros possam operar como mediadores endócrino-parácrino que ligam a homeostase energética à reprodução (96-99). O sistema nervoso central (SNC), especialmente o hipotálamo e a pituitária, são os locais preliminares da ação desses mediadores do apetite, pela da influência sobre a pulsatilidade de GnRH, bem como produção e secreção de FSH e LH (99,100).

Dois grupos opostos à atividade neuronal que controlam o apetite estão presentes no núcleo arqueado hipotalâmico: o circuito estimulador do apetite e o inibidor do apetite. Os dois circuitos emitem sinais principalmente ao PVN para modular o comportamento alimentar e gasto energético. Os hormônios periféricos, como insulina, Leptina, grelina e PYY3-36, cruzam a barreira hemato-encefálica e exercem vários efeitos sobre este sistema. Do mesmo modo, esses hormônios periféricos alcançam também os neurônios secretores de GnRH dentro do PVN e do ARC, que estão muito próximos às áreas do controle do apetite para modular a pulsatilidade de GnRH, conseqüentemente afetando a produção e secreção de FSH e LH pela glândula pituitária anterior (99,101,102) (figura 1).



AgRP = agouti-related peptide; CART = cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide; POMC = Pro-opiomelanocortin.

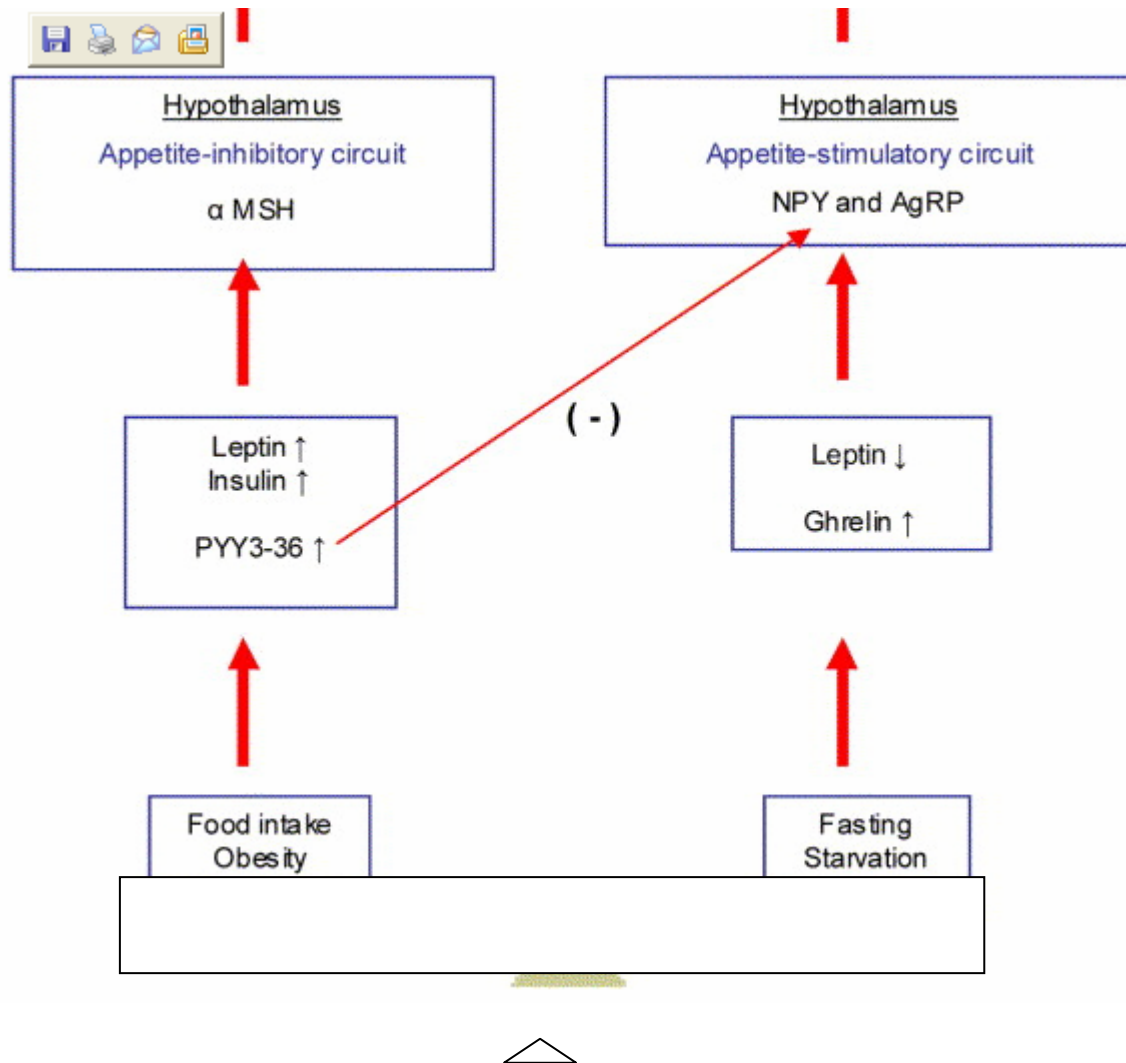
Adaptado de Budak (103).

Figura 1 - Ação de hormônios na reprodução

O controle metabólico e do comportamento alimentar envolve o sistema nervoso central e periférico e os tecidos periféricos. O estímulo sensorial primário é a disponibilidade de combustíveis metabólicos oxidáveis, como a glicose e ácidos graxos livres. Estes são detectados na haste do cérebro caudal, em áreas como AP (área prostema) e NTS (núcleo do trato solitário) inervado. Além disso, é possível que a disponibilidade de combustível seja detectada periféricamente nos tecidos, como no fígado e intestino, e estes sinais sejam retransmitidos ao cérebro através do núcleo dorsal motor do vago (DMV). A secreção de hormônios, como a insulina e a Leptina, é estimulada pelo influxo metabólico de combustível para os tecidos, como o pâncreas e o tecido adiposo, respectivamente.

O circuito de estimulação do apetite sinaliza os neurotransmissores do neuropeptídeo Y (NPY) e do peptídeo agouti (AgRP), que regulam positivamente o apetite e promovem a alimentação (coluna direita). O neuropeptídeo Y sinaliza diretamente ao PVN, visto que o AgRP age indiretamente. O circuito de inibição do apetite sinaliza principalmente o hormônio estimulante de α -melanócitos (α -MSH), que opera para inibir o apetite e a alimentação

(coluna esquerda). Os maiores níveis de Leptina e insulina estimulam o circuito de inibição do apetite com a regulação positiva de α -MSH e inibem os neurônios de estimulação do apetite, suprimindo a expressão NPY e de AgRP no hipotálamo. Em contraste, os níveis aumentados da grelina estimulam os neurônios de estimulação do apetite (103) (figura 2).



Adaptado de Budak (103).

Figura 2 - Balanço energético e apetite

3. Relação da taxa metabólica basal com a restrição calórica e/ou hiperatividade nos distúrbios do ciclo menstrual

A taxa metabólica basal (TMB) é o maior componente do gasto energético total diário de um indivíduo. Em adultos com alimentação normal, a TMB está diretamente correlacionada com a massa livre de gordura, que é o componente principal da massa celular corporal metabolicamente ativa. Contudo, avaliando-se a TMB quando existe restrição dietética calórica, observa-se que a TMB encontrada por calorimetria direta é menor do que a prevista (104). Isso indica que, com uma ingestão calórica inadequada às necessidades metabólicas, haveria uma regulação negativa do equilíbrio energético. Lefebvre (105) investigando a hipótese de que a TMB e a termogênese poderiam estar envolvidas como reguladoras da secreção de gonadotrofinas, avaliaram por calorimetria indireta a relação entre a concentração plasmática de LH e FSH e a TMB em 20 mulheres com anorexia nervosa com idade entre 14 e 38 anos. Todas as pacientes eram amenorréicas. Nessas mulheres, a TMB observada foi 21% mais baixa do que a TMB prevista (equação Harris-Benedict); os níveis médios de LH encontrados antes da fase de realimentação foram acentuadamente diminuídos e o FSH foi baixo, mas menos alterado. Durante a realimentação, a análise multivariada mostrou que a TMB teve uma correlação maior com a resposta LH e FSH. ($r= 0,616$ $p< 0,0001$) quando comparada com o IMC ou reserva de gordura corporal. Essas descobertas, segundo os autores, embasariam a hipótese da regulação energética na secreção de gonadotrofinas. Observou-se também que na fase de hiperalimentação os níveis de gonadotrofinas retornam aos valores fisiológicos quando a TMB se normaliza mesmo antes do peso corporal voltar ao padrão normal. Bringer et al. (5) também levantam o impacto de uma TMB baixa na termogênese e reflexo vasomotor. O efeito da diminuição da termogênese no fluxo sanguíneo hipotalâmico e secreção neuro-hormonal poderia explicar grande parte das desordens ovulatórias e de infertilidade que ocorrem na mulher hiperativa e com restrição dietética sem aparente perda de peso. Além disso, baixos níveis de tri-iodotironina (T3), principal hormônio da tireóide que regula o metabolismo, foram relatados nas atletas amenorréicas (106).

2.3.1 Efeitos energéticos no Sistema HPG

Os hormônios são produzidos para servir como mediadores entre eventos metabólicos sensoriais e mecanismos cerebrais que controlam o equilíbrio energético e a reprodução. Suas concentrações no sangue e a ligação aos seus receptores refletem a quantidade de energia armazenada ou a disponibilidade de combustíveis metabólicos oxidáveis. As concentrações hormonais circulantes também estão associadas aos estados reprodutivos, e

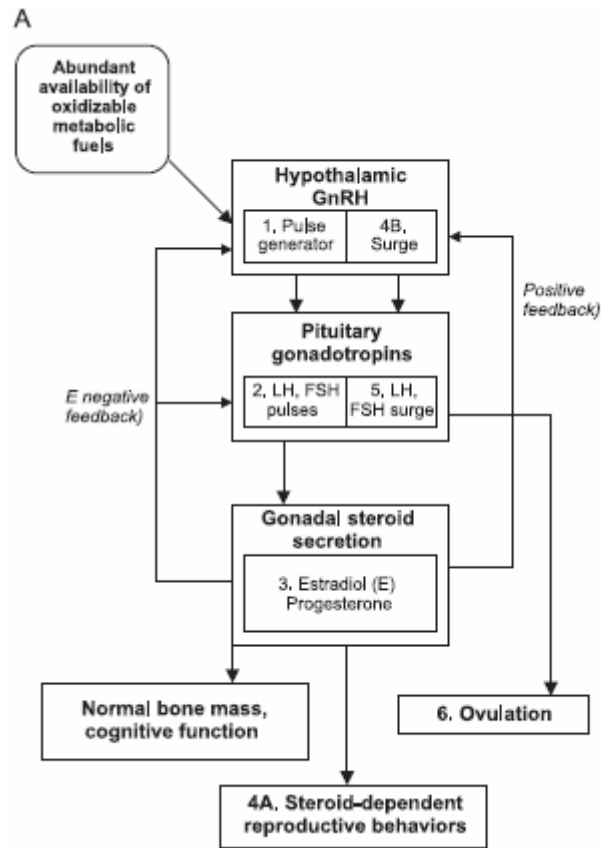
assim podem modular a disponibilidade de combustíveis metabólicos e dar prioridade a comportamentos para otimizar o sucesso reprodutivo.

Quando há abundância de combustíveis metabólicos, os ciclos ovulatórios são caracterizados por uma secreção pulsátil de GnRH liberada dos terminais de células neurosecretoras hipotalâmicas. Cada pulso de GnRH é liberado na circulação pituitária portal e estimula a secreção de um pulso de hormônio luteinizante (LH) da pituitária anterior na circulação geral. O desenvolvimento do folículo é estimulado pelos pulsos de LH e FSH que se ligam a seus respectivos receptores no folículo ovariano.

Durante o desenvolvimento folicular (a fase folicular do ciclo ovulatório), as concentrações relativamente baixas de E (estradiol) circulantes têm efeitos negativos no GnRH hipotalâmico e na secreção pituitária de gonadotropinas. E também têm efeitos estimulantes na sua própria síntese e secreção, de modo que assim, as concentrações de E continuam a elevar-se na circulação sistêmica. Em concentrações mais elevadas, E tem efeitos positivos no GnRH hipotalâmico e na secreção pituitária de gonadotrofinas e induz o surgimento de LH, que por sua vez induz a ovulação (Figura 3).

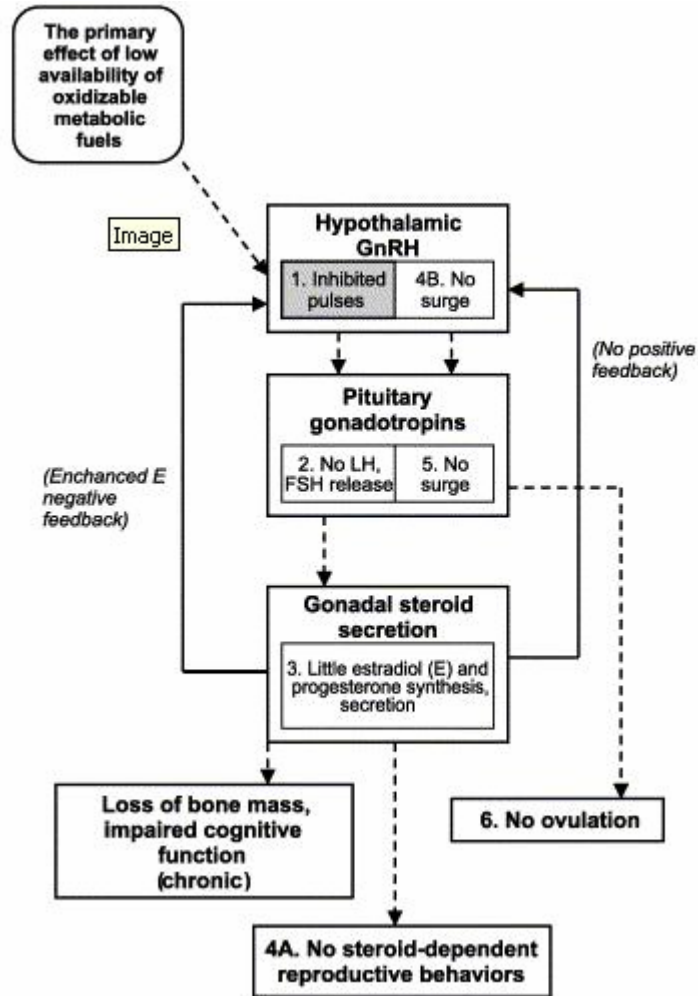
O principal efeito do déficit na disponibilidade de combustíveis metabólicos é (1) a inibição do gerador de pulso hipotalâmico de GnRH. Isto leva a uma seqüência de eventos, como (2) inibição da secreção pituitária de gonadotrofinas, (3) inibição do desenvolvimento do folículo e da secreção de E e P (progesterona). Os efeitos da inibição de secreção de esteróides são (4a) a inibição do comportamento reprodutivo e (4b) a inibição do surgimento de LH. Nas mulheres, quando os esteróides ovarianos permanecem cronicamente baixos, há perda de massa óssea e talvez isso prejudique até mesmo a função cognitiva. Sabemos que o gerador de pulso de GnRH é o local preliminar do efeito porque o tratamento exógeno com pulsos de GnRH, em várias espécies, restaura a secreção pituitária de gonadotrofinas, o desenvolvimento folicular, a secreção de esteróides ovarianos e o comportamento reprodutivo em fêmeas com privação alimentar (Figura 4).

O déficit na disponibilidade de combustíveis metabólicos tem efeito direto no sistema reprodutivo por alterar o pulso gerador de GnRH. Esses efeitos foram demonstrados através do fornecimento de GnRH exógeno, ou E e P aos animais com privação ou restrição alimentar crônica (Figura 5) (107).



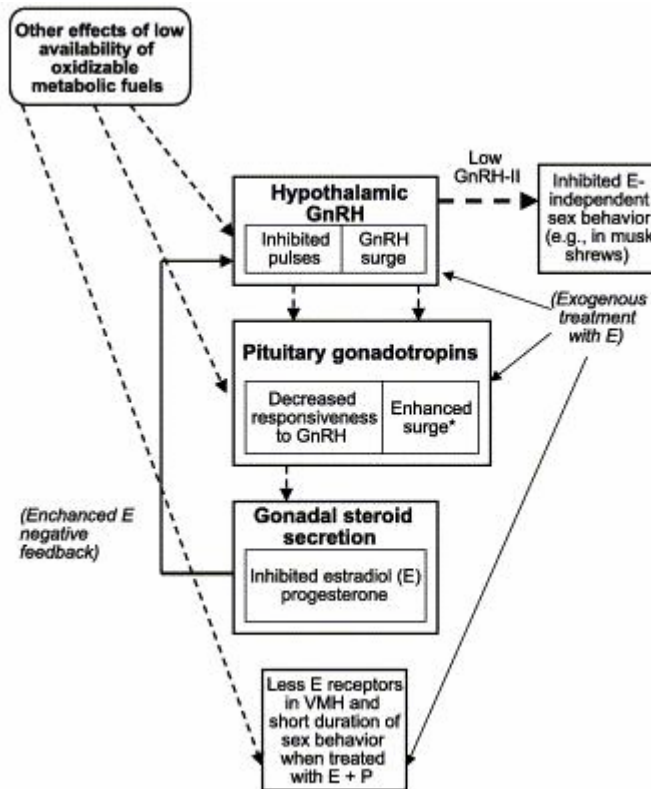
Fonte: Schneider JE. Energy Balance and Reproduction, Physiology Behavior 2004;81(2):289-317.

Figura 3 - Disponibilidade abundante de combustíveis metabólicos oxidáveis e comportamento reprodutivo



Fonte: Schneider JE. Energy Balance and Reproduction, Physiology Behavior 2004;81(2):289-317.

Figura 4 - Disponibilidade baixa de combustíveis metabólicos oxidáveis e comportamento reprodutivo



Fonte: Schneider JE. Energy Balance and Reproduction, Physiology Behavior 2004;81(2):289-317.

Figura 5 - Outros efeitos de baixa disponibilidade de combustíveis metabólicos oxidáveis

2.3.2 Equilíbrio energético e comportamento reprodutivo

A lista dos mensageiros químicos e eventos metabólicos que controlam o consumo alimentar e a reprodução cresceu rapidamente desde a clonagem do gene *ob* (obese) em 1994 (108). Os principais estímulos metabólicos são gerados por mudanças na oxidação dos combustíveis metabólicos (109,110). Além disso, os principais estímulos sensoriais elevam-se a partir da distensão mecânica do lúmen, das contrações do intestino e das mudanças químicas dentro do lúmen intestinal (111). É útil distinguir estes eventos sensoriais dos eventos endócrinos. Um sistema sensorial metabólico que monitora a disponibilidade energética e emite sinais neurais ao gerador de pulso de GnRH esclarece a rápida resposta do eixo HPG à disponibilidade de combustíveis metabólicos durante a privação alimentar ou realimentação. Os efeitos de mudanças metabólicas no LH ocorrem mais rapidamente do que mudanças no índice de gordura corporal em diversas espécies (112,113).

De acordo com a hipótese metabólica, o índice de gordura corporal, o consumo calórico e o gasto energético controlam a função reprodutiva agindo através de um estímulo sensorial comum, a disponibilidade geral de combustíveis metabólicos oxidáveis (114).

Pouco se sabe sobre a natureza dos detectores sensoriais da disponibilidade de combustível. Entretanto, a existência deste sistema sensorial está revelada pela inibição da reprodução e pelo aumento na entrada de alimento quando os caminhos metabólicos específicos são inibidos. A pesquisa sobre o controle metabólico do sistema sensorial que controla a entrada de alimento conduz a diversos princípios importantes que foi possível aplicar ao sistema sensorial que controla a reprodução (110,115). Primeiramente, o estímulo sensorial é gerado por mudanças na oxidação de combustíveis metabólicos ou nos resultados metabólicos dessa oxidação, não em um tipo particular de combustível. Em segundo, o estímulo sensorial interage melhor com um detector intracelular do que com um receptor da membrana que detecte concentrações circulantes de substratos metabólicos. Em terceiro lugar, o estímulo pode ser detectado periférica e centralmente. Por fim, os efeitos dos hormônios, como a insulina e a Leptina, podem ocorrer por influências indiretas sobre a oxidação periférica do combustível.

Supõe-se mais freqüentemente que a Leptina aja diretamente nos mecanismos hipotalâmicos que controlam o sistema HPG. No entanto, é importante notar, que a Leptina, se for administrada de maneira periférica ou central, regula consideravelmente o gasto energético, a termogênese. Assim, a oxidação de combustível tem a capacidade de influenciar indiretamente o consumo alimentar e a reprodução, disponibilizando mais combustíveis para a oxidação, o que modifica o principal estímulo metabólico sensorial (116-118).

Alguns estudos sugerem que a Leptina aumenta a disponibilidade e oxidação da glicose (116,119). Atualmente há evidências muito coerentes com a idéia de que a Leptina aumenta a disponibilidade e a oxidação intracelular de FFAs (ácidos graxos livres), os quais podem se tornar disponíveis para a oxidação por (1) diminuição da *síntese de novo* de FFAs, (2) diminuição intracelular da esterificação de FFAs a triglicerídeos (3) aumenta a degradação de triglicerídeos e oxidação de FFA e (4) transporte de FFA aos tecidos não adiposos (118). Como a Leptina é importante para impedir a síntese de triglicerídeos e promover oxidação intracelular de glicose e de FFA, sua falta no gene *ob/ob* pode influenciar o sistema reprodutivo, diminuindo a disponibilidade e a oxidação intracelular dos combustíveis.

A idéia de que a infertilidade resulte do excesso de energia armazenada (que ocorre em alguns tipos de obesidade) e também associada ao déficit na disponibilidade e oxidação metabólica de combustível, é ilustrada pelas experiências que empregam o tratamento de insulina em altas doses como uma ferramenta para desviar da circulação os combustíveis

metabólicos endógenos nos tecidos onde são armazenados. O tratamento com altas doses de insulina sistêmica aumenta a entrada de alimento e promove a deposição de gordura em mamíferos (120).

Os resultados das experiências que avaliaram a insulina e a Leptina enfatizam a idéia de que os hormônios podem influenciar a reprodução e o equilíbrio energético indiretamente, via estímulos sensoriais metabólicos. Neste sentido, são mais moduladores do estímulo metabólico, do que mediadores entre o nível de energia interna e os efeitos centrais (107).

2.4 LEPTINA

A descoberta da Leptina, cuja molécula ou estrutura foi identificada em 1995, foi considerada um achado em endocrinologia. É um hormônio protéico que consiste em 167 aminoácidos (121), com um peso molecular de 16 kDa (122,123). Seu nome derivou do grego “leptos” (magro), é secretada pelos adipócitos e foi descoberta pela clonagem posicional do gene da obesidade (*ob*) (108), sendo chamada originalmente de hormônio antiobesidade. A pesquisa extensiva sobre a Leptina nos últimos anos mostrou que ela não é somente um mensageiro derivado do tecido adiposo que informava a quantidade de energia armazenada ao cérebro, mas também um hormônio com estrutura terciária similar à das citocinas (108) cruciais a um número de diversos processos fisiológicos, como inflamação, angiogênes, hematopoiese, função imune e, principalmente, a reprodução (124). A Leptina é expressa também no hipotálamo (125), pituitária (126), epitélio fúndico gástrico (127), músculo esquelético (128) e epitélio mamário (129).

- Receptores

Seus receptores foram encontrados no hipotálamo (130,131), na parte endócrina do pâncreas e ovários, nas células da granulosa, útero (132), rins (131), pulmões (131), coração, fígado e músculos esqueléticos (130).

Esses receptores possuem partes funcionais: (1) Extracelular, que interage com a Leptina e é idêntica a todas as isoformas dos receptores *ob-r*, (2) Intracelular, que quando ativada estimula os eventos celulares. Seu tamanho e seu domínio determinam a ação que a Leptina exercerá sobre a célula-alvo. Após a ativação, mediada pelo sistema ligante-receptor com a proteína Leptina, age sobre Janus quinase (JAK), que fosforila as proteínas membros da família de transcrição e tradução de sinais (*Signal Transduction And Transcription* - STAT). Essas proteínas agem dentro do núcleo das células, ativando a transcrição de genes dependentes de Leptina, mecanismo denominado efeito

transmembrana genômico da Leptina, que serve para "ancorar" o receptor à membrana celular (133).

Um pequeno receptor de Leptina com uma região citoplasmática de 34 aminoácidos foi identificada no plexo coriônico. Este tipo de receptor pode ser usado para o transporte de Leptina através da barreira hemato-encefálica. Em seguida, une-se a um receptor maior no hipotálamo, com uma região citoplasmática de 302 aminoácidos, e reduz a produção do neuropeptídeo de Y, um neurotransmissor que aumenta o apetite para que haja ingestão alimentar. O receptor maior da Leptina transmite a informação através da Janus kinase (JAK) (130,131).

A existência dos receptores de Leptina na porção endócrina do pâncreas sugere que este hormônio provavelmente regule a liberação de insulina. De outra forma, deve existir um mecanismo inverso na regulação entre pâncreas e tecido adiposo. Estabeleceu-se recentemente que a Leptina inibe a secreção de insulina e age contra a insulina no fígado e tecido adiposo. A confirmação destas ações pretende demonstrar que a Leptina poderia exercer um papel similar ao do fator de necrose tumoral (TNF- α). Conseqüentemente, a Leptina promoveria a resistência à insulina que é observada em obesos e diabéticos tipo II (130).

Os receptores da Leptina foram identificados em tecidos ovarianos humanos. Os níveis deste hormônio aumentam significativamente seguindo o pico de LH na ovulação ou administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) em casos de ovulação induzida. Conseqüentemente, a Leptina pode agir em combinação com outras citocinas, fatores de crescimento e hormônios esteróides para preparar o endométrio à chegada de um óvulo fertilizado (132).

São necessários mais estudos para determinar o papel da Leptina nos outros órgãos acima mencionados.

- Produção e mecanismos regulatórios

O tecido adiposo branco é responsável pela maior parte da Leptina produzida pelo organismo. A expressão do ácido ribonucléico mensageiro (mRNA) para a Leptina é menor em tecido gorduroso visceral do que em tecido subcutâneo em humanos (134). O padrão pulsátil e o período de secreção da Leptina sugerem que deva existir um mecanismo coordenador da sua produção nestes diferentes locais onde a proteína é expressa. O pico de secreção da Leptina se dá durante a noite em humanos, e as concentrações plasmáticas são pouco influenciadas pelas refeições (135).

A massa total de tecido adiposo do organismo é o fator que mais está associado às concentrações de Leptina no sangue. Por extensão, medidas indiretas de gordura corpórea (p. ex. índice de massa corpórea) também estão fortemente relacionadas à Leptina

circulante (136). Porém, diversos mecanismos fisiológicos influenciam a síntese aguda da Leptina e, conseqüentemente, levam a oscilações nas quantidades de Leptina intrinsecamente associadas à massa de gordura. Jejum, exercício físico moderado e frio resultam em uma diminuição da expressão do gene da Leptina e possível queda nas concentrações plasmáticas da proteína (137).

- Circulação no sangue

A Leptina, assim como os fatores de crescimento e as citocinas, circulam no sangue ligadas a proteínas, incluindo seu receptor solúvel. A maior parte da Leptina no sangue de pessoas magras circula junto a proteínas, enquanto que em obesos esta proteína se encontra na forma livre. A comparação dos níveis de Leptina livre entre magros e obesos torna a hiperleptinemia mais óbvia em obesos do que a simples medição dos níveis totais da Leptina (138).

- Resistência

A maioria dos obesos apresenta níveis elevados de Leptina. A falta desta (mutação do gene da Leptina), ou sua ação ineficaz (mutação do gene do receptor da Leptina) resultam no aumento dos níveis de neuropeptídeo Y no hipotálamo. Este aumento causa a hipersecreção de insulina e de glicocorticóides, o que promove a hipersecreção de Leptina. Quando esta Leptina é ineficiente, não pode reduzir a secreção de neuropeptídeo Y. Forma-se um círculo vicioso que sustenta a idéia de hiperfagia ou obesidade (138).

- Papeis neuroendócrinos

A localização do receptor de Leptina no eixo HPG sugeriu que a mesma pode ter um papel neuroendócrino na reprodução (139,140). Embasando esta possibilidade, McCann e os colegas relataram que a Leptina estimula a liberação de gonadotrofina, potencialmente através de um local pituitário-hipotalâmico (141). Os resultados dos estudos com cultura de tecido pituitário demonstraram que a Leptina induz o aumento na liberação de LH, FSH e prolactina (PRL) (141). Isto está de acordo com os relatórios que demonstram a capacidade da Leptina exógena em aumentar os níveis de LH séricos em camundongos fêmeas no jejum, prevenindo a diminuição da secreção pulsátil de LH e a restauração do surgimento de LH e prolactina induzido por esteróides em fêmeas em jejum (142,143). Além disso, estudos avaliaram os efeitos da Leptina na secreção de gonadotrofinas em macacos machos, indicando que a Leptina previne a supressão plasmática nos níveis de LH e FSH induzidas pelo jejum (144). Um local hipotalâmico de ação foi sugerido pelos estudos *in vitro* que demonstraram que a Leptina aumenta significativamente a secreção de GnRH pelo ARC e pelo ME (141). O tratamento com anticorpos CART (cocaine and amphetamine-

regulated peptide) demonstrou atenuar a estimulação da Leptina na pulsatilidade de GnRH (145). Como foi comprovado que a Leptina é influenciada por hormônios esteróides e pode agir estimulando a liberação de LH, foi levantada a hipótese de que ela poderia ser um importante sinal no desenvolvimento da puberdade. De fato, a Leptina mostrou acelerar o início da puberdade em camundongos fêmeas normais (146).

Em humanos, as meninas apresentaram concentrações séricas de Leptina mais altas antes, durante e depois da puberdade do que os meninos, até mesmo depois do ajuste por maior quantidade de gordura em meninas (147). As concentrações de testosterona estavam negativamente associadas aos níveis de Leptina em meninos na puberdade, enquanto as concentrações de 17β -estradiol estavam positivamente associadas aos níveis de Leptina em meninas na puberdade. Com o início da puberdade, a Leptina aumenta em meninas e diminui em meninos (148).

2.4.2 Reprodução

Diante da grande demanda energética da gravidez e lactação, o organismo suprime a atividade reprodutiva quando as quantidades de gordura corporal são escassas (149). Acredita-se hoje em dia que a Leptina tenha o papel de informar ao cérebro que as reservas energéticas na forma de gordura são suficientes para manter a reprodução (150). O primeiro indício do efeito da Leptina neste sentido provém de estudos com camundongos da cepa ob/ob. Estes animais são inférteis, porém a Leptina reverte a disfunção sexual e os camundongos ob/ob são capazes de procriar quando cruzados com a cepa selvagem (151). Observa-se um efeito semelhante em cepas selvagens de camundongos, uma vez que a Leptina antecipa o início da função reprodutiva nestes animais (146). Vários estudos usam o artifício de diminuir a atividade da Leptina para verificar sua ação no eixo reprodutivo. Soro antileptina injetado no ventrículo cerebral de ratos levou a uma diminuição dos pulsos do hormônio luteinizante (LH) e interrupção do estro (152). O jejum acompanhado da queda da Leptina está associado à redução da atividade secretória do LH em várias espécies (150). Mais recentemente, um estudo demonstrou que a cepa transgênica de camundongos que expressa Leptina exageradamente tem a sua puberdade acelerada (153). Os autores notaram, porém, o aparecimento de hipogonadismo hipogonadotrófico de início tardio nestes mesmos animais. Tal estudo confirma a importância da Leptina na reprodução, mas aponta para os possíveis efeitos da hiperleptinemia a longo prazo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HPG).

Sabe-se que a desnutrição em crianças leva a um retardo da puberdade e que o baixo peso em adultos está associado a uma função sexual inadequada (149). Na mesma linha de raciocínio do que foi exposto acima sobre a reprodução, a Leptina parece ter o papel de

desencadear o início da puberdade em humanos. Finalmente, os indivíduos adultos que carregam a mutação na Leptina ou no seu receptor apresentam hipogonadismo hipogonadotrófico, atestando a importância funcional da Leptina durante a puberdade (154).

Portanto, a avaliação do estado nutricional, bem como dos níveis plasmáticos de Leptina em mulheres inférteis, seria de grande importância para a identificação de possíveis fatores nutricionais relacionados às desordens relativas à reprodução humana.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Determinar o perfil antropométrico e os níveis de Leptina em mulheres inférteis atendidas no Ambulatório de Reprodução Assistida do HCPA.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar a relação entre estado nutricional e os níveis plasmáticos de Leptina.
- Comparar os níveis plasmáticos de Leptina entre mulheres férteis e inférteis.
- Correlacionar a taxa de gordura corporal e os níveis de Leptina.
- Correlacionar os tipos de distribuição de gordura corporal e níveis plasmáticos de Leptina.

4 REFERÊNCIAS

1. Cumming DC, Wheeler GD, Harber VJ. Physical activity, nutrition, and reproduction. *Ann NY Acad Sci* 1994;709:55–76.
2. Wynn M, Wynn A. The prevention of handicap of early pregnancy origin. London: Foundation for Education and Research in Childbearing, 1981.
3. Susser M, Stein, Z. Timing in prenatal nutrition: a reprise of the Dutch Famine Study. *Nut Rev* 1994;52:84–94.
4. Negro-Vilar A. Stress and other environmental factors affecting fertility in men and women: overview. *Environ Health Perspect* 1993;101(Suppl 2): 59-64.
5. Bringer J, Lefebvre P, Boulet F, Clouet S, Renard E. Deficiency of energy balance and ovulatory disorders. In: Basdevant A, Bringer J, Lefebvre P. *Weight, Nutrition and Hormonal Events in Women*. Ed. Oxford University Press. *Human Reprod* 12 1997; (Suppl 1): 97-109.
6. Pirke KM, Fitcher MM, Chlond C et al. Disturbances of the menstrual cycle in bulimia nervosa. *Clin Endocrinol* 1987;24:245-51.
7. Stewart DE, Robinson E, Goldbloom DS, Wright C. Infertility and eating disorders. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1576-7.
8. Morgan JF, McCluskey SE, Bruton JN, Lacey JH. Polycystic ovarian morphology and bulimia nervosa: a 9 year follow-up study. *Fertility and Sterility* 2002;77:928-31.
9. Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Clin Obstet Gynecol* 1974;185:949-51.
10. Speroff L, Glass RH, Kase N. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994:401-56.
11. Frisch RE. Fatness, menarche, and female fertility. *Perspect Biol Med* 1985;28:611-33.
12. Friedman CI, Kim MH. Obesity and its effect on reproductive function. *Clin Obstet Gynecol* 1985;28:645–63.
13. Schweiger J, Tuschl RJ, Laessle RG et al. Consequences of dieting and exercise on menstrual function in normal weight young women. In: Pirke KM, Wuttke W and Schweizer U (eds). *The Menstrual cycle and Its Disorders*. Springer Verlag, Berlin, Hidelberg 1989;142-9.
14. Pirke KM, Schweiger U, Strowitzki T. Dieting causes menstrual irregularities in normal weight young women through impairment of episodic luteinizing hormone secretion. *Fertil Steril* 1989;51:263-8.
15. Rock CL, Gorenflo DW, Drewnoski A, Demitrack MA. Nutritional characteristics eating pathology, and hormonal status in young women. *Am J Clin Nutr* 1996;64:566-571.

16. Loucks AB, Mortola JF, Girton L, Yen SSC. Alterations in the hypothalamic-pituitary-ovarian and the hypothalamic-pituitary-adrenal axes in athletic women. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:402-11.
17. Loucks AB, Vaitukaitis J, Cameron JL, et al. The reproductive system and exercise in women. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24:288s-93s.
18. Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A. Trends in Endocrinology and Metabolism 2001 mar; 12(2):65-72.
19. Goumenou AG, Matalliotakis IM, Koumantakis GE, Panidis DK. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2003 feb;106(2):118-24.
20. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Muller J, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence of body mass index, gender, puberal stage and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2904-10.
21. Ostlund Jr. RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3909-13.
22. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsh J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, et al. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3424-7.
23. Segal KR, Landt M, Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* 1996;45:988-91.
24. Passos EP, Freitas F, Cunha F^o JSI. et al. Rotinas em infertilidade e contracepção. Editora Artmed 2003.
25. World Health Organization: Recent Advances in Medically Assisted Conception, WHO Technical Report Series. 820, 1992.
26. Farley TM, Belsey FH. The prevalence and etiology of infertility. In *Biological Components of Fertility. Proceedings of the African Population Conference, Dakar, Senegal, November 1988. Liege, Belgium: International Union for the Scientific Study of Population.* 1988;1(2.1):15-30.
27. Rowe PJ. WHO Manual for standardized investigation of the infertile couple. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
28. Legato MJ, Gender-specific aspects of obesity. *Int. J. Fertil. Menopausal Stud.* 1997;42:184-97.
29. Hollmann M, Runnebaum B, Gerhard I. Impact of waist-hip-ratio and body-mass-index on hormonal and metabolic parameters in young, obese women. *Int. J. Obesity* 21, 1997;476-83.
30. Parihar M. Obesity and infertility. *Reviews in Gynaecological Practice* 2003 sep; 3(3): 120-6.
31. WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation, Geneva, 3-5jun 1997. Geneva, WHO. (WHO/NUT/98.1), 1998.

32. Willet W. Anthropometric Measures and Body Composition. In. Nutritional Epidemiology. Ed Hardcover, 1998; 245-72.
33. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Abridged edition, 1991, 90p.
34. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S. Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 63 (1995), pp. 58–62
35. Longcope C, Pratt JH, Schneider SH, Fineberg SE. Aromatization of androgens by muscle and adipose tissue in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1978;46:146.
36. Stanik S, Dornfeld LP, Maxwell MH, Viosca SP, Korenman SG. The effect of weight loss on reproductive hormones in obese men. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;53:828.
37. Bronson FH. Food-restricted, prepubertal, female rats: rapid recovery of luteinizing hormone pulsing with excess food, and full recovery of pubertal development with gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology* 1986;118:2483.
38. Zumoff B, Strain GW, Miller LK, et al. Plasma free and non-sex-hormone-binding-globulin-bound testosterone are decreased in obese men in proportion to their degree of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 71 (1990), p. 929
39. Von Shoultz B, Carlstrom K. On the regulation of sex-hormone-binding globulin. A challenge of old dogma and outlines of an alternative mechanism, *J Steroid Biochem* 1989;32:327-34.
40. Tchernof A, Despres JP. Sex steroid hormones, sex hormone-binding globulin, and obesity in men and women, *Horm Metab Res* 2000;32:526-36.
41. Kurtz BR, Givens JR, Komindr S, Stevens MD, Karas JG, Bittle JB., et al., Maintenance of normal circulating levels of $\Delta 4$ -androstenedione and dehydroepiandrosterone in simple obesity despite increased metabolic clearance rates evidence for a servo-control mechanism, *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1261-7.
42. Kirschner MA, Samojlik E, Drejka M, Szmal E, Schneider G, Ertel N. Androgen-estrogen metabolism in women with upper body versus lower body obesity, *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:473-9.
43. Pasquali R, Vicennati V. Obesity and hormonal abnormalities. In: P. Bjorntorp, Editor, *International textbook of obesity*, John Wiley & Sons, Chichester (UK) 2001;225-39.
44. Evans DJ, Hoffmann RG, Kalkhoff RK, Kissebah AH. Relationship of androgenic activity to body fat topography, fat cell morphology and metabolic aberrations in premenopausal women, *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57:304-10.
45. Bernstein AH, Courtney L, Braget DJ. Estrogens and the Leydig LTW(m) tumor syndrome: anorexia and diet aversions attenuated by area postrema lesions. *Physiol Behav* 1986;38:159.
46. Gentry RT, Wade GN. Androgenic control of food intake and body weight in male rats. *J Comp Physiol Psychol* 1976;90:18.
47. Norman GN, Masters SC, Hague W, Beng C, Pannall P, Wang JX. Metabolic approaches to the sub-classification of polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 1995;63:329-35.

48. Moran LJ, Norman RJ. The obese patient with infertility: a practical approach to diagnosis and treatment. *Nutr. Clin Care* 2002;5(6):290-7.
49. Mitchell GW, Rogers J. The influence of weight reduction on amenorrhea in obese women. *NEJM* 1953;249:835-7.
50. Hartz AJ, Barboriak PN, Wong A, Katayama KP, Rimm AA. The association of obesity with infertility and related menstrual abnormalities in women. *Int. J. Obes.* 1979;3:57-73.
51. Lake JK, Power C, Cole TJ. Womens reproductive health: the role of body mass index in early and adult life. *Int. J. Obesity* 1997;21:432-8.
52. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW. Body mass index and ovulatory infertility. *Epidemiology* 1994;5:247-50.
53. Homburg R, Insler V. Ovulation induction in perspective. *Hum. Reprod. Update* 2002;8(5):449-62.
54. Homburg R. Should patients with polycystic ovarian syndrome be treated with metformin? A note of cautious optimism. *Hum. Reprod* 2002;17(4):853-6.
55. Clark AM, Ledger W, Galletly C, Tomlinson L, Blaney F, Wang X, Norman RJ. Weight loss results in significant improvement in pregnancy and ovulation rates in anovulatory obese women. *Hum. Reprod* 1995;10:2705-12.
56. Wang X, Davies M, Norman RJ. Body mass and probability of pregnancy during assisted reproduction treatment: retrospective study. *Br. Med. J.* 2000;321:1320-21.
57. Lewis CG, Warnes GM, Wang XJ, Matthews CD. Failure of body mass index or body weight to influence markedly the response to ovarian hyperstimulation in normal cycling women. *Fertil. Steril.* 1990;53:1097-9.
58. Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Eur. J. Endocrinol* 2002;147(6):717-25.
59. Haas DA, Carr BR, Attia GR. Effects of metformin on body mass index, menstrual cyclicity, and ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril* 2003;79(3):469-81.
60. Schneider M, Wade GN. Availability of metabolic fuels controls estrous cyclicity of Syrian hamsters. *Science* 1989;244:1326-8.
61. Bucholtz DC, Vidwans NM, Herbosa CE et al. Metabolic interfaces between growth and reproduction. *Endocrinology* 1996;137:601-7.
62. Bergendahl M, Veldhuis JD. Altered pulsatile gonadotropin signaling in nutritional deficiency in the male. *TEM* 1995;6:145-59.
63. Schreiber W, Schweiger U, Werner D et al. Circadian pattern of large neutral aminoacids, glucose, insulin and food intake in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Metabolism* 1991;40:503-7.
64. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395:763-70.

65. Gonzalez RR, Simon C, Caballero-Campo P et al. Leptin and reproduction. *Hum Reprod Update* 2000;6(3):290-300.
66. Khort WM, Landt M, Birge Jr SL. Serum leptin levels are reduced in response to exercise training but not hormone replacement therapy in older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3980-5.
67. Kolaczynski JW, Ohannezian JP, Considine RV et al. Response of leptin to short term and prolonged overfeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4162-5.
68. Cioffi JA, Schafer AW, Zupancic TJ et al. Novel B219. OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nature Med* 1996;2:585-9.
69. Foster DL, Nagatani S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biol Reprod* 1999;60(2):205-15.
70. Chronwall BM, DiMaggio DA, Massari VJ, Pickel VM, Ruggerio DA, O'Donohue TL. The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in the rat brain. *Neuroscience* 1985;15:1159-81.
71. Danger JM, Tonon MC, Jenks BG, Saint-Pierre S, Martel JC, Fasolo A, et al. Neuropeptide Y: localization in the central nervous system and neuroendocrine functions. *Fundam. Clin. Pharmacol* 1990;4:307-40.
72. Gray TS, Morley JE. Neuropeptide Y: anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system. *Life Sci.* 1986;38:389-401.
73. Keisler DH, Daniel JA, Morrison CD. The role of leptin in nutritional status and reproductive function. *J Reprod Fertil* 1999;Suppl 54:425-35.
74. Burks DJ, De Mora JF, Schubert M et al. IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis. *Nature* 2000;407(6802):377-82.
75. Tatemoto K, Mutt V. Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides, *Nature* 1980;285:417-8.
76. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, et al. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake, *Nature* 2002;418:650-4.
77. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, et al., Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36, *N Engl J Med* 2003;349:941-8.
78. Xiao Q, Han X, Arany E, Hill D, Challis JR, McDonald TJ. Human placenta and fetal membranes contain peptide YY1-36 and peptide YY3-36, *J Endocrinol* 1998;156:485-92.
79. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med* 2001;7(8):941-6.
80. Berg AH, Combs TP, Du X, et al., The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001;7(8):947-53.
81. McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, et al. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(5):2407-10.

82. Misra A, Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutr* 2003;19:457-66.
83. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte-at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Neuroendocrinol* 2003;144(9):3765-73.
84. Steppan CM, Balley ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright C, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409:307-12.
85. McTernan PG, Fisher FM, Valsamakis G, Chetty R, Harte A, McTernan CL, et al. Resistin and type 2 diabetes: regulation of resistin expression by insulin and rosiglitazone and the effects of recombinant resistin on lipid and glucose metabolism in human differentiated adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:6098-106.
86. Savage DB, Sewter CP, Klent ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, et al. Resistin/fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-g action in humans. *Diabetes* 2001;50:2199-202.
87. Kojima M, Hosoda H, Date Y. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999; 402:656-60.
88. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rats des-Gln 14- Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem*. 2000; 275(29):910-3.
89. Rosicka M, Krsek M, Matoulek Z, Jarkovska Z, Marek J, Justova V, et al. Serum ghrelin levels in obese patients: the relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. *Physiol Res*. 2003;52(1):61-6.
90. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth-hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metabol*. 2001;12(3):118-22.
91. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2000; 85(12):4908-11.
92. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000; 407(6806):908-13.
93. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and human. *Endocrinology*. 2000; 141(11):4255-61.
94. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*. 2001;409(6817):194-8.
95. Ukkola O, Poykoo S. Ghrelin, growth and obesity. *Ann Med*. 2002; 34(2):102-8.
96. Leidy HJ, Gardner JK, Frye BR, Snook ML, Schuchert MK, Richard EL. Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal weight young women. *J Clin Endocrinol Metabol*, 2004; 89(6):2659-64.
97. Gale M, Castracane VD, Mantzoros CS. Energy homeostasis, obesity and eating disorders recent advances in endocrinology, *J Nutr* 2004;134:295-8.

98. Korner J, Leibel RL. To eat or not to eat – how the gut talks to the brain, *N Engl J Med* 2003;349:926-8.
99. Karlsson C, Lindell K, Svensson E, Bergh C, Lind P, Billig H, et al. Expression of functional leptin receptors in the human ovary, *J Clin Endocrinol Metab* 82 (1997), pp. 4144–4148
100. Kitawaki J, Kusuki I, Koshiba H, Tsukamoto K, Honjo H. Leptin directly stimulates aromatase activity in human luteinized granulosa cells, *Mol Hum Reprod* 1999;5:708-13.
101. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, et al., Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake, *Nature* 2002;418:650-4.
102. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS et al. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36, *N Engl J Med* 2003;349 (10):941-8.
103. Budak E, Sánchez MF, Bellver J, Cerveró A, Simón C, Pellicer A. Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system. *Fertility and Sterility* 2006;85(6):1563-81.
104. Luke A, Schoeller DA. Basal metabolic rate, fat free mass and body cell mass during energy restriction. *Metabolism* 1992;450-6.
105. Lefebvre P, Marinez TH, Sultan CH et al. Impact of renutrition on gonadotropin in functional hypothalamic amenorrhea. Role of basal metabolic rate. The Endocrine Society, Washington DC, USA, pp 2-358 (1992).
106. Myerson MB, Gutin B, Warren MP. Resting metabolic rate and energy balance in amenorrheic and eumenorrheic runners. *Med Sci Sports Exerc* 1991;23:15–22.
107. Schneider JE. Energy Balance and Reproduction, *Physiology Behavior* 2004;81(2):289-317.
108. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
109. Friedman MI. Making sense out of calories. In: Stricker EM. Editor, *Handbook of behavioral neurobiology: Neurobiology of food and fluid intake* vol. 10, Plenum, New York 1990; 513–29.
110. Friedman MI. Control of energy intake by energy metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995;62:1096S–1100S [Suppl.].
111. Schwartz GJ. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake. *Curr. Prospects Nutr.* 2000;16:866–73.
112. Bronson FH; Heideman PD. Short-term hormonal responses to food intake in peripubertal female rats. *Am. J. Physiol.* 1990;259:R25–R31.
113. Szymanski LA, Schneider JE, Rao A, Clarke IJ. Rapid restoration of luteinizing hormone pulses in refeed chronically undernourished ewes occurs without alterations in plasma leptin concentrations. [Abstr]. *Soc. Neurosci.* 2003.
114. Schneider JE, Wade GN. Decreased availability of metabolic fuels induces anestrus in golden hamsters. *Am. J. Physiol.* 1990;258:R750–R755.

115. Friedman MI. Fuel partitioning and food intake. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998;67:S513-S518.
116. Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature* 1997;389:374–7.
117. Rossetti L, Massillon D, Barzilai N, Vuguin P, Chen W, Hawkins M, et al., Short term effects of leptin on hepatic gluconeogenesis and in vivo insulin action. *J. Biol. Chem.* 1997;272:27758-63.
118. William Jr. WN, Ceddia RB, Curi R. Leptin controls the fate of fatty acids in isolated rat white adipocytes. *J. Endocrinol.* 2002;175:735-44.
119. Minokoshi Y, Haque MS, Shimazu T. Microinjection of leptin into the ventromedial hypothalamus increases glucose uptake in peripheral tissues in rats. *Diabetes* 1999;48:287-91.
120. Wade GN, Schneider JE, Friedman MI. Insulin-induced anestrus in Syrian hamsters. *Am. J. Physiol.* 1991;260:R148–R152.
121. Weigle DS. Leptin and other secretory products of adipocytes modulate multiple physiological functions. *Ann. Endocrinol. (Paris)* 1997;58:132–6.
122. Maffei M, Halaas J, Ravussin E. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Med* 1995;1:1155–61.
123. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 1998;76:405-20.
124. Mantzoros CS. Role of leptin in reproduction. *Ann NY Acad Sci* 2000;900:174-83.
125. Morash B, Li A, Murphy PR, Wilkinson M, Ur E. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. *Endocrinology* 1999;140:5995-8.
126. Jin L, Zhang S, Burguera BG, Couce ME, Osamura RY, Kulig E, Lloyd RV, Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. *Endocrinology* 2000;141:333–9.
127. A. Bado, S. Levasseur, S. Attoub, S. Kermorgant, J.P. Laigneau, M.N. Bortoluzzi et al., The stomach is a source of leptin. *Nature* 394 (1998), pp. 790–793
128. J. Wang, R. Liu, M. Hawkins, N. Barzilai and L. Rossetti , A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* 393 (1998), pp. 684–688
129. S.M. Smith-Kirwin, D.M. O'Connor, J. De Johnston, E.D. Lancey, S.G. Hassink and V.L. Funanage , Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab* 83 (1998), pp. 1810–1813
130. L.L. Bernardis and L.L. Bellinger , The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1998 update. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 218 (1998), pp. 284–306.
131. K. Sharma and R.V. Considine, The ob protein (leptin) and the kidney. *Kidney Int.* 53 (1998), pp. 1483–7.

132. J. Cioffi, J. Van Blerkom, M. Antczak, A. Shafer, S. Wittmer and H.R. Snodgrass, The statement of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol. Hum. Reprod.* 3 (1997), pp. 467–72.
133. Schwartz MW, Woods SC, Porte DJR, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000; 404 (6778):661-71.
134. Hube F, Lietz U, Igel M, Jensen PB, Tornqvist H, Joost HG, et al. Difference in leptin mRNA levels between omental and subcutaneous abdominal adipose tissue from obese humans. *Horm Metab Res* 1996;28:690-3.
135. Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza G, Wong ML, Bongiorno PB, et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med* 1997;3:575-9
136. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5
137. Hickey MS, Houmard JA, Considine RV, Tyndall GL, Midgette JB, Gavigan KE, et al. Gender-dependent effects of exercise training on serum leptin levels in humans. *Am J Physiol* 1997;272:E562-6
138. The role of leptin in fertility - European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, Volume 106, Issue 2, 10 February 2003, Pages 118-124 -Anastasia G. Goumenou, Ioannis M. Matalliotakis, Georgios E. Koumantakis and Dimitrios K. Panidis
139. H. Fei, H.J. Okano, C. Li, G.-H. Lee, C. Zhao, R. Darnell and J.M. Friedman, Anatomic localization of alternately spliced leptin receptors (OB-R) in mouse brain and other tissues. *Neurobiology* 94 (1997), pp. 7001–7005
140. D.G. Baskin, T.M. Hahn and M.W. Schwartz , Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm Metab Res* 31 (1999), pp. 345–350
141. W.H. Yu, M. Kimura, A. Walczewska, S. Karanth and S.M. McCann, Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997), pp. 1023–1028
142. R.S. Ahima, D. Prabakaran, C. Mantzoros, D. Qu, B. Lowell, E. Maratos-Flier and J.S. Flier , Role of leptin in neuroendocrine response to fasting. *Nature* 382 (1996), pp. 250–252
143. S. Nagatani, P. Guthikonda, R.C. Thompson, H. Tsukamura, K.I. Maeda and D.L. Foster , Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology* 67 (1998), pp. 370–376
144. P.D. Finn, M.J. Cunningham, K.Y. Pau, H.G. Spies, D.K. Clifton and R.A. Steiner, The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine axis of the monkey. *Endocrinology* 139 (1998), pp. 4652–4662
145. A.S. Parent, M.C. Lebrethon, A. Gerard, E. Vandersmissen and J.P. Bourguignon, Leptin effects on pulsatile gonadotropin releasing hormone secretion from the adult rat hypothalamus and interaction with cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide and neuropeptide Y. *Regul Pept* 92 (2000), pp. 17–24.

146. F.F. Chehab, K. Mounzih, R. Lu and M.E. Lim , Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science* 275 (1997), pp. 88–90
147. E.W. Demerath, B. Towne, W. Wisemandle, J. Blangero, W.C. Chumlea and R.M. Siervogel , Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty. *Int J Obes Relat Metab Disord* 23 (1999), pp. 678–685
148. M.L. Ahmed, K.K. Ong, D.J. Morrell, L. Cox, N. Drayer, L. Perry, M.A. Preece and D.B. Dunger, Longitudinal study of leptin concentrations during puberty: sex differences and relationship to changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 84 (1999), pp. 899–905
149. Frisch RE. The right weight: body fat, menarche and fertility. *Proc Nutr Soc* 1994;53:113-29
150. Cunningham MJ, Clifton DK, Steiner RA. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol Reprod* 1999;60:216-22
151. Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet* 1996;12:318-20
152. Carro E, Pinilla L, Seoane LM, Considine RV, Aguilar E, Casanueva FF, et al. Influence of endogenous leptin tone on the estrous cycle and luteinizing hormone pulsatility in female rats. *Neuroendocrinology* 1997;66:375-7
153. Yura S, Ogawa Y, Sagawa N, Masuzaki H, Itoh H, Ebihara K, et al. Accelerated puberty and late-onset hypothalamic hypogonadism in female transgenic skinny mice overexpressing leptin. *J Clin Invest* 2000;105:749-55
154. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996;379:632-5

**5 ARTICLE IN ENGLISH: ANTHROPOMETRIC AND LEPTIN PLASMATIC LEVELS
EVALUATION IN INFERTILE WOMEN ATTENDING HCPA¹ ASSISTED
REPRODUCTION SECTOR**

**Ana Carolina Andretti¹, Eduardo Pandolfi Passos², Cileide Cunha Moulin³, Carolina
Boettge⁴, Carolina Guerini de Souza⁴**

¹ Masters Degree student in the Medical Sciences Graduate Program

² Human Reproduction Sector /HCPA Gynecology and Obstetrics Service

UFRGS² Medicine School Obstetrics and Gynecology Department

³ Assistant Professor – Unisinos³

⁴ Undergraduate students – Unisinos

This study has been financially supported by HCPA Incentive to Research and Events Fund and CAPES (Coordination for Higher Level Graduates Improvement)

Correspondence to: Ana Carolina C.Andretti
Rua Demétrio Ribeiro 870/1103
Cep: 96010-000
Porto Alegre, RS, Brasil
E-mail: carolandretti@hotmail.com or carolandretti@gmail.com

¹ TN: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Porto Alegre Clinics Hospital)

² TN: Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Federal University of Rio Grande do Sul)

³ Universidade do Vale do Rio dos Sinos (University of River Sinos Valley)

ABSTRACT

Objective: To determine leptin levels in infertile women assisted in HCPA Assisted Reproduction Ambulatory; relate nutritional state, fat rate and distribution to leptin plasmatic levels and compare them to those of fertile women.

Materials e Methods: Case-control study among women diagnosed with unknown cause infertility and women with proved fertility assisted by HCPA Gynecology Service in Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Patients underwent an evaluation of anthropometric, biochemical and leptin plasmatic levels.

Results: The study included 28 women, out of which 18 cases and 10 controls, with average age of 34.8 ± 4.0 and 31.8 ± 5.4 respectively. There was no significant difference between the groups ($p=0.106$). In what concerns BMI and WHR, there was no significant difference between the groups ($p=0.122$ e $p=0.364$). Biochemical exams showed no significant difference between the groups in total cholesterol ($p= 0.259$) and triglycerides ($p=0.286$). Significant difference between the groups was noticed in the percentage of body fat ($p=0.027$), waist ($p=0.025$) and hip circumferences ($p=0.037$), leptin plasmatic levels ($p=0.001$), and HDL ($p=0.003$). There was significant correlation between leptin plasmatic levels and hip circumference ($r =0.58$; $p=0.001$) and the waist ($r=0.56$; $p=0.002$) and BMI ($r =0.51$; $p=0.006$). The linear regression model presented the group as one of the main statistically significant predictors for leptin levels.

Conclusion: The data presented in this study suggest leptin as the main infertility predictor.

Key-words: infertility, leptin, body fat rate, BMI

INTRODUCTION

Several aspects, such as psychological, social, demographic, and physiological, may somehow alter human fertility, thus increasing the research in etiology and its treatment.

Nowadays much attention has been given to food intake as related to several factors. One of the focuses is reproduction, which seems to be affected by nutritional unbalance, both positive and negative (1). Because the adipose tissue produces hormones, there is an association with fat mass extension and estrogen liberation (2).

A lot of data suggest different hormonal and metabolic responses, depending on fat distribution and type. Women with central fat present high LH, androstenedione, estrone, insulin, triglycerides, very low density lipoprotein (VLDL) e apolipoprotein B levels, and lower levels of high density lipoproteins. Those altered levels cause significant disturbances to the HPG-axis (hypothalamic-pituitary-gonad axis). Norman and et al. (3) have reported that raised WHR(Waist to Hip ratio) is associated to severe hormonal disturbances, particularly with insulin. The Iowa Study on Women's Health has also pointed out that high WHR values were related to menstrual abnormalities and high prevalence of infertility (4).

Keeping one's weight within normal parameters has proved to influence fertility (5-10). Besides, it improves the response to infertility treatment (9,11-13).

As GnRH liberation occurs as a consequence of the liberation of a few hormones, leptin has been proved to take part in this reproductive sequence (14-24).

It should also be stressed that reproductive alteration can already occur in puberty (23,25). Thus the aims of this study were to determine anthropometric profile and leptin levels in infertile women, and the relation between nutritional state and leptin plasmatic levels, coupled with the correlation between distribution type and amount of body fat and leptin and to identify any differences in these parameters as related to infertile women.

MATERIALS E METHODS

A case-control study was performed to evaluate patients diagnosed with unknown cause infertility assisted at the HCPA Assisted Reproduction Sector in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, by the same investigator, in the period from March to December 2004.

The calculation of sample size was based on a 12-individual pilot study, with 6 cases and 6 controls.

For a significance level of 5%, 90% power, 2:1 ratio between samples and a minimum effect size of 1.5, 27 subjects were obtained – 18 cases and 9 controls.

The study was performed with the previous written consent of all patients, given after an explanation of the study's objective and the need for patient collaboration in following the proposed schedule.

The criteria for the inclusion of cases were consent in taking part in the proposed investigation after due information, when patients signed the consent agreement; age between 18 and 35; without biological children; undergoing treatment at the HCPA Assisted Reproduction Sector; unknown cause infertility diagnose. This was characterized by the lack of gestation after at least one year with sexual intercourse and absence of any contraceptive methods, and absence of specific diagnose related to the infertility cause after a couple investigation based on female and hormonal cause and male hormonal cause (26).

The exclusion criteria were patients taking medicine for hormonal alterations, dislipidemia, and diabete mellitus, hypothyroidism, those who had undergone or were undergoing hypocalorical ou hypercalorical diet in the last year, had had weight decrease or increase over 5% within an year, had eating disorder history, and occurrence of well-succeeded gestation.

The inclusion criteria were age between 18 and 35, biological children and gestational age, undergoing routine assistance at the HCPA Obstetrics and Gynecology Ambulatory.

The exclusion criteria were similar to those applied to the cases, coupled with the non-occurrence of well-succeeded gestation.

Anthropometric, biochemical and leptin-dosage evaluation

Anthropometric measures used for nutritional state evaluation, all gathered by the same researcher, include weight measured in grams (with light clothes and no shoes), tallness in centimeters (erect position, barefoot, with the heels side by side and arms along the body), waist circumference (medium point between the lowest rib and the iliac crest), waist and hip circumference in centimeters, also with tricipital skin fold (TSF) in mm², arm circumference (AC), arm muscle area (AMA), and body mass index. For such measures, a Urano® digital anthropometric scale (180kg capacity), fiber glass tape, dermatographic pen and Lange®plicometer were used.

Body mass index (BMI) was calculated through the formula $BMI = \text{weight (kg)} / \text{tallness (m)}^2$ (27) (Table 1) and waist-hip index were calculated through the ratio between abdominal circumference and hip circumference measures (28) Lohman was used to classify the body fat rate (29).

Table 1 - Classification of Body mass index

BMI value (kg/m²)	Classification
≤ 18.5	Underweight
18.6 - 24.9	Eutrophy
25.0 - 29.9	Overweight
≥ 30.0	Obesity

Sourcee: WHO, 1998.

With patients in orthostatism, waist was considered as the smallest circumference between the inferior iliac spine and the iliac crest; hip was determined as the widest circumference measured between the greater trochanters, according to the World Health Organization (27) Androgenic obesity was defined as cases when the relation waist-hip was over 0.85 and gynoid obesity as this relation was lower than 0.85 (30).

Leptin was measured by radioimmunoassay (Kit Human Leptin IRMA DLS- 23100, Texas), performed at the HCPA Radioimmunoassay Sector. This kit was compared to others commercially available and obtained $r = 0.98$. The minimum leptin concentration detectable was 0.1 ng/ml, with intraassay and interassay variation coefficients lower than 3% e 7%, respectively.

Biochemical evaluation – It consists in total cholesterol + fractions and triglycerides, dosed according to conventional methods by the HCPA research lab.

Both leptin and biochemical evaluations were performed in the morning, with 12-hour fast.

Statistical analysis

Quantitative variables with symmetrical distribution were described through average and standard deviation, and those with asymmetrical distribution through medians and percentis 25-75. Qualitative variables were described through absolute and relative frequencies.

In order to compare quantitative variables with symmetrical and asymmetrical distribution in groups, t-Student and Mann-Whitney tests were respectively used.

Because of the asymmetry in leptin levels, Spearman (r_s) correlation was used in order to evaluate the association between this variable and the other quantitative variables.

In order to predict leptin levels and control potentially confusing variables, the multiple linear regression model was used. For the execution of this model a logarithmic transformation was applied in the data concerning leptin levels. Standardized regression coefficients (beta) were also used to identify variables with higher prediction power.

The significance level adopted was 5%; thus $P \leq 0.05$ values were considered as statistically significant.

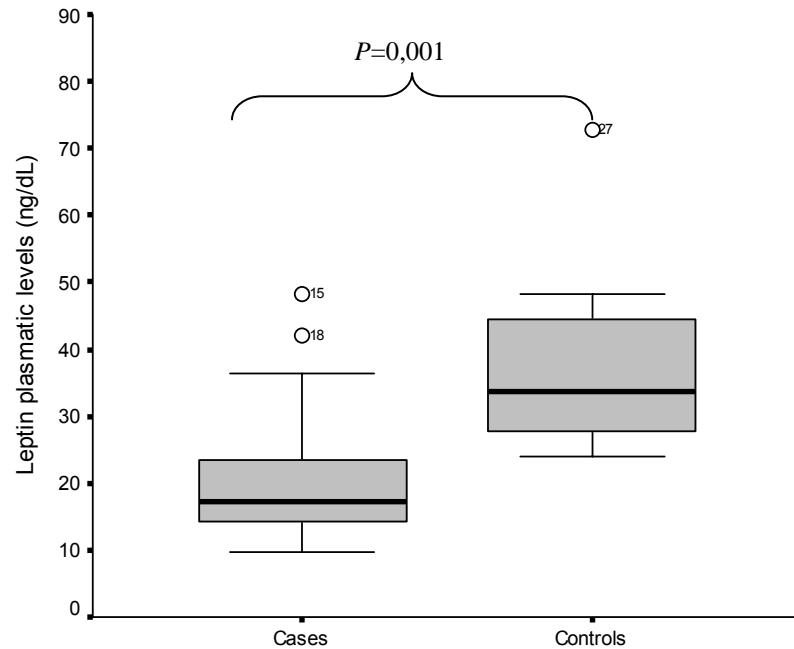
Analyses were performed in the SPSS program (*Statistical Package for the Social Sciences*) version 10.0.

RESULTS

The study included 28 women assisted at HCPA Gynecology Service. Out of those, 18 had been diagnosed with unknown cause infertility (cases) and 10 attend routine consultations (controls). The average age was 34.8 ± 4.0 and 31.8 ± 5.4 respectively, with no statistic difference between the groups ($p=0.106$). BMI did not present significant difference either ($p=0.122$). It reached 22.3 ± 2.8 in infertile women and 24.3 ± 3.5 in fertile women. In what concerns WHR, there was no statistical difference ($p=0.364$), with 0.79 ± 0.05 values in the cases and 0.81 ± 0.06 in the controls. Triglycerides and total cholesterol also did not present statistical difference between the groups ($p=0.286$) and ($p=0.259$) respectively.

There was statistic difference in the percentage of body fat between the groups. It reached 31.6 ± 3.9 for cases and 35.4 ± 4.4 for controls ($p=0.027$), just as for waist circumference (74.1 ± 6.8 cases and 80.3 ± 6.3 controls; $p=0.025$) and hip (93.4 ± 6.1 cases and 99.2 ± 7.7 controls; $p=0.037$).

In what concerns leptin there was significant difference between groups ($p=0.001$), as Graph 1 shows, and the same occurred to HDL ($p=0.003$). Table 2 summarizes these data (features of women sample according to the group).



Graph 1 – Leptin plasmatic levels in fertile and infertile women

Table 2 – Characterization of women sample according to the group

Features	Cases (n=18)	Controls (n=10)	P
Age*	34.8 ± 4.0	31.8 ± 5.4	0.106
BMI*	22.3 ± 2.8	24.3 ± 3.5	0.122
BF (%)*	31.6 ± 3.9	35.4 ± 4.4	0.027
Waist *	74.1 ± 6.8	80.3 ± 6.3	0.025
Hip *	93.4 ± 6.1	99.2 ± 7.7	0.037
WHR *	0.79 ± 0.05	0.81 ± 0.06	0.364
Leptin **	17.3 (14.1 – 25.7)	33.7 (27.1 – 45.4)	0.001
Triglycerides **	66.0 (50.8 – 100.8)	81.5 (55.0 – 105.5)	0.286
Total chlesterol*	173.8 ± 27.0	163.1 ± 14.8	0.259
HDL *	59.8 ± 11.9	46.2 ± 7.4	0.003

BMI = body mass index; BF = body fat; WHR = Waist-hip-ratio

* Average ± DP

** Medians (P25 – P75)

There was significant correlation between leptin plasmatic levels and hip circumference ($r = 0.58$; $p = 0.001$) (Figure 1) and waist ($r = 0.56$; $p = 0.002$) (Figure 2) and BMI ($r = 0.51$; $p = 0.006$) (Figure 3).

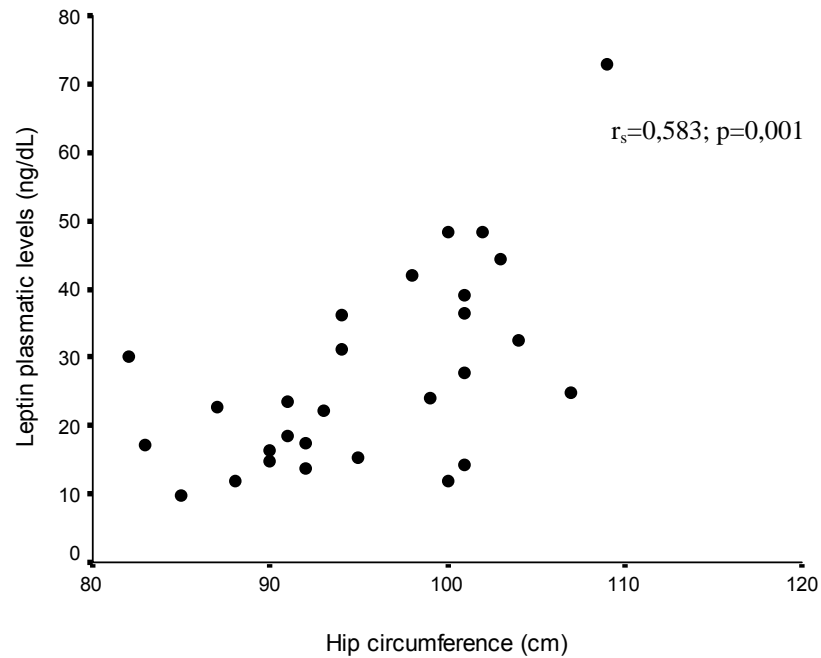


Figure 1 - Positive linear correlation between leptin and hip circumference in fertile and infertile women (linear regression analysis)

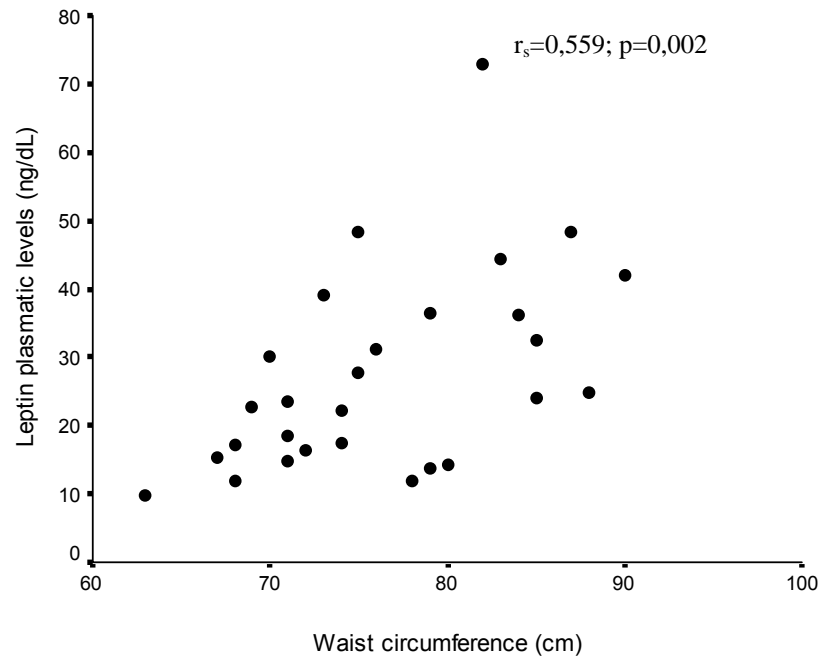


Figure 2 - Positive linear correlation between leptin and waist circumference in fertile and infertile women (linear regression analysis)

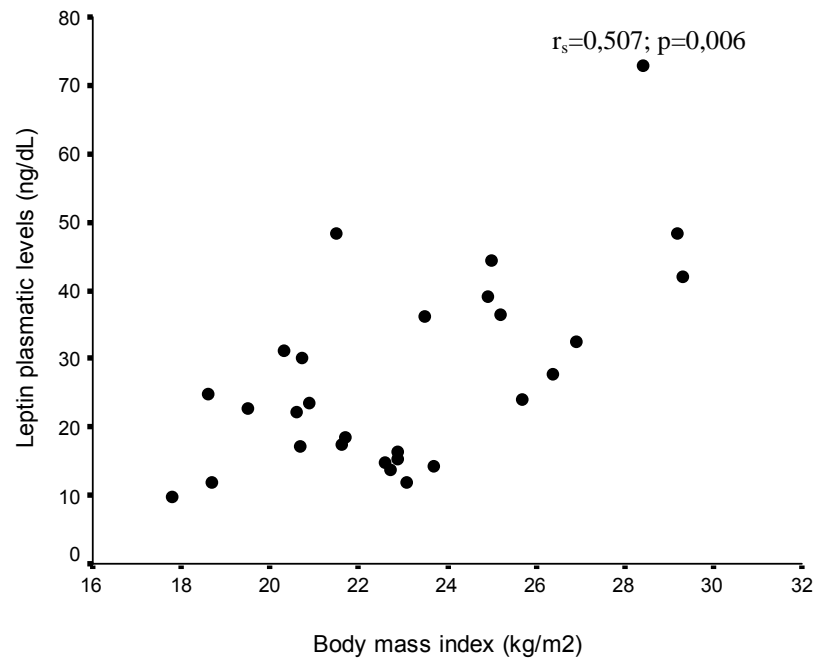


Figure 3 - Positive linear correlation between leptin BMI in fertile and infertile women (linear regression analysis)

The linear regression model presented three statistically significant predictors for leptin level: BMI, BF (%) and group. Through the standardized correlation coefficient (beta), it was possible to check that the variables which better explain leptin levels variability are, respectively, BMI, group, and body fat percentage (Table 3).

Table 3 - Linear regression model used to obtain leptin level predictors

Variables	Beta	P
Age	-0.042	0.778
BMI	0.712	0.016
BF (%)	-0.536	0.042
Waist	0.399	0.093
Hip	-0.090	0.711
Triglycerides	0.145	0.461
HDL	0.111	0.499
Group	-0.557	0,002

Logarithmic model: $F_{(8;18)} = 7.455; p < 0.001; R^2 = 76.8\%$

DISCUSSION

This study corroborates the findings that women unable to carry out their gestation to the end present lower leptin levels.

The non-occurrence of significant difference between groups in relation to age ($p=0.106$), BMI ($p=0.122$), WHR ($p=0.037$) made the leptin-related comparison between groups easier. That is because, as it was mentioned, underweight or overweight, as well as increased abdominal fat (higher WHR), could influence leptin plasmatic levels (31-33).

As for significant differences found concerning body fat rate ($p=0.027$), waist ($p=0.025$) and hip ($p=0.037$) circumferences, these variables showed more values in the control group, which could also justify this group's higher leptin levels, thus showing the positive association between adipose tissue and leptin well described in the literature (31-33).

HDL presented significant difference between groups ($p=0.003$). There is evidence that central fat raises LH, androstenedione, estrone, insulin, triglycerides, very low density lipoprotein (VLDL) and apolipoprotein B levels, as well as lower high density lipoprotein (HDL) levels. These altered levels cause significant disturbances in the normal HPG-axis (hypothalamic-pituitary-gonad) and have different gynecological effects (34).

In what concerns leptin, there was statistic difference between groups ($p=0.001$). Its importance was strenghtened after standardized correlation coefficient beta was applied, ($R^2=76.8\%$; $p<0.001$), showing that the group is the main predictor for leptin levels. Leptin similar values in women with gesting difficulties were found in other studies (35). Women who had suffered repeated miscarriages had significantly lower levels than those who had gested their pregnancy to the end, and also leptin levels similar to those found in this study (36,41,42).

In the study performed with women suffering from functional hypothalamic amenorrhea, patients also presented much lower leptin levels, as compared to the controls with the same BMI (37), which has suggested that energetic balance may interfere with leptin, BMI e body weight levels.

A study carried out in 2001 showed that women who had gested to the end presented higher leptin levels than those who had suffered repeated miscarriages (38).

There is evidence that energetic unbalance may regulate leptin secretion, independently from body fat reserves (39). Leptin influences the pulsing secretion of GnRH-LH and CRH-ACTH-cortisol central axis. More specifically, leptin reduction may directly lead to LH decrease. Recent evidences suggest that low food intake may suppress LH pulsatility with leptin (40). Studdies suggests that women with recurrent miscarriage presented lower leptin levels (36,41,42).

In what concerns BMI and percentage of body fat as predictors of leptin levels, this may be due to controls presenting higher body composition values, which seem to be proved in the literature about individuals without fertility alterations (32,43-45).

Specific hormonal dosage, which could have been correlated to leptin, such as estradiol and progesterone, was not analysed.

As mentioned by some authors, hormonal modifications mediated by leptin show a different association that had been previously supposed. For instance, estradiol affects leptin independently from fat rate (46).

A study proved that estradiol is inversely associated to fat central deposition and positively associated to peripheral deposition (47).

Leptin levels are altered according to menstrual cycle stages, and plasmatic concentrations are increased in follicle and luteal phases in normal cycles (48).

High estrogen concentrations during gonadotrophin stimulation cycles are associated to high leptin concentrations (49).

This means that leptin secretion and/or action may be modulated by other factors besides adiposity, and there is evidence that leptin can influence oocyte quality and embryo development (39,40). Estradiol and progesterone increase leptin (50-53). There is even evidence that estradiol and progesterone treatment can avoid a decrease in leptin levels (54). This could be treated as a body defense mechanism related to the low leptin levels caused by hormonal alteration in the HPG-axis. This suggests that low leptin levels may cause the body to increase energetic consume, thus regulating hormonal liberation at pituitary-gonadal level. This allows us to suppose that low leptin levels found in patients suffering from reproductive disturbances may actually be an organism's attempt to regulate hormonal alteration, because it recognizes this alteration to be caused by some alteration in the energetic balance. This may be exemplified through amenorrhea presented by anorexic patients. On the other hand, the opposite happens to obese women – the main cause would also be a false lack of cell fuel, not due to the absence of energetic consume, but to leptin resistance, which to the organism seems to be energetic restriction (similar to insulin-hyperglycemia, but cell hunger), found in obese women (32,55). They present high leptin plasmatic levels, which however are not recognized by the organism. This mechanism is similar to that of insulin: patients with diabetics type 2 present resistance to it. This causes hyperglycemia and thus hyperfagia. Another possibility would be that obese women might present hyperfagia and thus an increase in fat deposits. As leptin is a hormone produced in the adipocytes, the higher the amount of body fat is, the higher leptin levels will be. Once more, the same can be supposed about anorexic patients – the lower the fat rate and food intake are, the lower leptin production gets (56).

We could more clearly suppose, how an organism with body fat alteration, – low fat rate (low leptin) – high fat rate (high leptin) could affect reproduction? Could be explained by the resistance to it, there is no action, and therefore the organism reacts as if there were no cell fuel. So how could the body possibly generate a new being, while facing this energetic unbalance? Besides, the decrease in the BMR explains the idea of saving energy for functions more necessary to the organism than the formation of a new being.

In short, leptin provides an additional communication level between adipose tissue and reproductive axis through energetic balance, thus assuring this axis' functional integrity in humans. Leptin can coordinate neuroendocrinal responses associated to energetic deprivation, with or without weight and BMI variation, to avoid metabolic fuel waste. Therefore leptin can be a key-factor in human reproduction.

This study noticed that leptin is to be found in lower levels in infertile women, which is also presented by other studies (35-39,41,42).

This suggests the need for more research, in order to check leptin action particularly in the oocyte quality and embryo development, and not only at ovulatory level.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to the statistician Ceres Oliveira for statistical analyses, with assistance of Leticia Dornelles for revision English, Zuleica da Silva for revision formatting, Mabel Figueiró and to all others from HCPA Assisted Reproduction Sector , administrative and nursing staff for their collaboration and FIPE (Financeiro Fundo de Incentivo à Pesquisa).

REFERENCES

1. Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Clin Obstet Gynecol* 1974;185:949-51.
2. Cumming DC, Wheeler GD, Harber VJ. Physical activity, nutrition, and reproduction. *Ann NY Acad Sci* 1994;709:55-76.
3. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S. Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:58-62.
4. Hollmann M, Runnebaum B, Gerhard I. Impact of waist-hip-ratio and body-mass-index on hormonal and metabolic parameters in young, obese women. *Int J Obesity* 1997;21:476-83.
5. Norman RJ, Masters SC, Hague W, Beng C, Pannall P, Wang JX. Metabolic approaches to the sub-classification of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:329-35.
6. Moran LJ, Norman RJ. The obese patient with infertility: a practical approach to diagnosis and treatment. *Nutr Clin Care* 2002;5(6):290-7.
7. Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2002;147(6):717-25.
8. Haas DA, Carr BR, Attia GR. Effects of metformin on body mass index, menstrual cyclicity, and ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;79(3):469-81.
9. Clark AM, Ledger W, Galletly C, Tomlinson L, Blaney F, Wang X, et al. Weight loss results in significant improvement in pregnancy and ovulation rates in anovulatory obese women. *Hum Reprod* 1995;10:2705-12.
10. Parihar M. Obesity and infertility - Reviews in Gynaecological Practice 2003;3(3):120-6.
11. Homburg R, Insler V. Ovulation induction in perspective. *Hum Reprod* 2002;8(5):449-62.
12. Homburg R. Should patients with polycystic ovarian syndrome be treated with metformin? A note of cautious optimism. *Hum Reprod* 2002;17(4):853-6.
13. Wang X, Davies M, Norman RJ. Body mass and probability of pregnancy during assisted reproduction treatment: retrospective study. *Br Med J* 2000;321:1320-1.
14. Mantzoros CS. Role of leptin in reproduction. *Ann NY Acad Sci* 2000;900:174-83.
15. Cioffi J, Van Blerkom J, Antczak M, Shafer A, Wittmer S, Snodgrass HR. The statement of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod* 1997;3:467-72.

16. Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, Friedman JM. Anatomic localization of alternately spliced leptin receptors (OB-R) in mouse brain and other tissues. *Neurobiology* 1997;94:7001-5.
17. Baskin DG, Hahn TM, Schwartz MW. Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm Metab Res* 1999;31:345-50.
18. Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1023-8.
19. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996;382:250-2.
20. Nagatani S, Guthikonda P, Thompson RC, Tsukamura H, Maeda KI, Foster DL. Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology* 1998;67:370-6.
21. Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK, Steiner RA. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine axis of the monkey. *Endocrinology* 1998;139:4652-62.
22. Parent AS, Lebrethon MC, Gerard A, Vandersmissen E, Bourguignon JP. Leptin effects on pulsatile gonadotropin releasing hormone secretion from the adult rat hypothalamus and interaction with cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide and neuropeptide Y. *Regul Pept* 2000;92:17-24.
23. Frisch RE. The right weight: body fat, menarche and fertility. *Proc Nutr Soc* 1994;53:113-29.
24. Cunningham MJ, Clifton DK, Steiner RA. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol Reprod* 1999;60:216-22.
25. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996;379:632-5.
26. Passos EP, Freitas F, Cunha F^o JSI, et al. Rotinas em infertilidade e contracepção. Editora Artmed 2003.
27. WHO – World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation, Geneva, 3-5 jun 1997. Geneva, WHO. (WHO/NUT/98.1), 1998.
28. Willet W. Anthropometric Measures and Body Composition. In. *Nutritional Epidemiology*. Ed Hardcover, 1998; 245-72.
29. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Abridged edition, 1991, 90p.
30. Ashwell M, Chinn S, Stalley S, Garrow JS. Female fat distribution a simple classification based on two circumference measurements. *Int J Obes* 1982;6:143-52.
31. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5.

32. Goumenou AG, Matalliotakis IM, Koumantakis GE, Panidis DK. The role of leptin in fertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2003;106(2):118-24.
33. Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A. Leptin in reproduction. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2001;12(2):65-72.
34. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S. Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:58-62.
35. Mantzoros CS, Cramer DW, Liberman RF, Barbieri RL. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2000;15:539-44.
36. Laird SM, Quinton ND, Anstie B, Li TC, Blakemore AIF. Leptin and leptin-binding activity in women with recurrent miscarriage: correlation with pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2001;16:2008-13.
37. Andrico S, Gambera A, Specchia C, Pellegrini C, Falsetti L, Sartori E. Leptin in functional hypothalamic amenorrhoea. *Hum Reprod* 2002;17:2043-8.
38. Unkila-Kallio L, Andersson S, Koistinen HA, Karonen SL, Ylikorkala O, Tiitinen A. Leptin during assisted reproductive cycles: the effect of ovarian stimulation and of very early pregnancy. *Hum Reprod* 2001;16:657-62.
39. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes* 1996;45:1455-62.
40. Loucks AB, Heath EM. Dietary restriction reduces luteinizing hormone (LH) pulse frequency during waking hours and increases LH pulse amplitude during sleep in young menstruating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:910-20.
41. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women; a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;47:101-6.
42. Lage M, Garcia-Mayor RV, Tome MA, Cordido F, Valle-Inclan F, Considine RV, et al. Serum leptin levels in women throughout pregnancy and post-partum period and in women suffering spontaneous abortion. *Clin. Endocrinol (Oxf)* 1999;50(2):211-6.
43. Friedman CI, Kim MH. Obesity and its effect on reproductive function. *Clin Obstet Gynecol* 1985;28:645-63.
44. Ostlund Jr. RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3909-13.
45. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Muller J, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence of body mass index, gender, puberal stage and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2904-10.
46. Puder JJ, Monaco SE, Gupta SS, Wang J, Ferin M, Warren MP. Estrogen and exercise may be related to body fat distribution and leptin in young women. *Fertility and Sterility* 2006;86(3):694-9.

47. Leenen R, van der Kooy K, Seidell JC, Deurenberg P, Koppeschaar HP. Visceral fat accumulation in relation to sex hormones in obese men and women undergoing weight loss therapy, *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:1515-20.
48. Raid-Gabriel MG, Jinagouda SD, Sharma A, Boyadjian R, Saad MF. Changes in plasma leptin during the menstrual cycle. *Eur J Endocrinol* 1998;139(5)528-31.
49. Brannian JD, Schmidt SM, Kreger DO, Keith A, Hansen Baseline non-fasting serum leptin concentration to body mass index ratio is predictive of IVF outcomes. *Hum Reprod* 2001;16(9):1819-26.
50. Paolisso G, Rizzo MR, Mone CM, Tagliamonte MR, Gambardella A, Riondino M, et al. Estradiol and progesterone increase leptin. Plasma sex hormones are significantly associated with plasma leptin concentration in healthy subjects. *Clin Endocrinol* 1998;48:291-7.
51. Quinton ND, Laird SM, Okon MA, Li TC, Smith RF, Ross RJ, Blakemore AI. Serum leptin levels during the menstrual cycle of healthy fertile women. *Br J Biomed Sci* 1999;56(1):16-19.
52. Ludwig M, Klein HH, Diedrich K, Ortmann O. Serum leptin concentrations throughout the menstrual cycle. *Arch Gynecol Obstet* 2000;263:99-101.
53. Messinis IE, Papageorgiou I, Milingos S, Asproдини E, Kollios G, Seferiadis K. Oestradiol plus progesterone treatment increases serum leptin concentrations in normal women. *Hum Reprod* 2001;16:1827-32.
54. Messinis E, Kariotis I, Milingos S, Kollios G, Seferiadis K. Treatment of normal women with oestradiol plus progesterone prevents the decrease of leptin concentrations induced by ovariectomy. *Hum Reprod* 2000;15:2383-7.
55. Bernardis LL, Bellinger LL. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1998 update. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;218:284–306.
56. Chan JL, Mantzoros CS. Role of leptin in energy-deprivation states: normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhoea and anorexia nervosa. *The Lancet* 2005;366(9479):74-85.

6 ARTIGO EM PORTUGUÊS: AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LEPTINA EM MULHERES INFÉRTEIS DO SETOR DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA DO HCPA.

Ana Carolina Andretti¹, Eduardo Pandolfi Passos², Cileide Cunha Moulin³, Carolina Boettge⁴, Carolina Guerini de Souza⁴

¹ Aluna de mestrado PPG Ciências Médicas

² Setor de Reprodução Humana/Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do HCPA
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFRGS

³ Professora adjunta – Unisinos

⁴ Estudantes de graduação – Unisinos

Este estudo obteve auxílio financeiro do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do HCPA e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Correspondência para: Ana Carolina C.Andretti
Rua Demétrio Ribeiro 870/1103
CEP: 96010-000
Porto Alegre, RS, Brasil
E-mail:carolandretti@hotmail.com ou carolandretti@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Determinar os níveis de Leptina em mulheres inférteis atendidas no Ambulatório de Reprodução Assistida do HCPA; relacionar o estado nutricional, a taxa e o tipo de distribuição de gordura aos níveis plasmáticos de Leptina e compará-los com os de mulheres férteis.

Material e Métodos: Estudo caso-controle entre mulheres com diagnóstico de Infertilidade de causa desconhecida e mulheres comprovadamente férteis atendidas no Serviço de Ginecologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. As pacientes foram submetidas à avaliação antropométrica, bioquímica e de seus níveis plasmáticos de Leptina.

Resultados: O estudo incluiu 28 mulheres, sendo 18 casos e 10 controles, com média de idade de $34,8 \pm 4,0$ e $31,8 \pm 5,4$ respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,106$). Em relação ao IMC, RCQ não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,122$ e $p=0,364$). Nos exames bioquímicos não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao colesterol total ($p= 0,259$) e triglicerídeos ($p=0,286$). Observamos diferença significativa entre os grupos em relação à %GC ($p=0,027$), circunferência da cintura ($p=0,025$) e quadril ($p=0,037$), níveis plasmáticos de Leptina ($p=0,001$) e HDL ($p=0,003$). Houve correlação significativa entre níveis plasmáticos de Leptina e circunferência do quadril ($r =0,58$; $p=0,001$) e a cintura ($r=0,56$; $p=0,002$) e o IMC ($r =0,51$; $p=0,006$). O modelo de regressão linear apresentou o grupo como um dos principais preditores estatisticamente significativos para os níveis de Leptina.

Conclusão: Os dados do presente estudo sugerem que a Leptina é o maior preditor de infertilidade.

Palavras-chaves: infertilidade, Leptina, taxa de gordura corporal, IMC

INTRODUÇÃO

Vários aspectos, como psicológicos, sociais, demográficos e fisiológicos, podem alterar de alguma forma a fertilidade humana, aumentando com isso as pesquisas em relação à etiologia e seu tratamento.

Atualmente muita atenção tem sido dada à alimentação relacionada a diversos fatores. Um dos focos é a reprodução, a qual demonstra ser afetada pelo desequilíbrio nutricional tanto positivo quanto negativo (1). Pelo fato de o tecido adiposo produzir hormônios, há a associação à extensão de massa de gordura e à liberação de estrógenos (2).

Muitos dados sugerem respostas hormonais e metabólicas diferentes, dependendo do tipo de distribuição da gordura. As mulheres com gordura central têm níveis elevados de LH, androstenediona, estrona, insulina, triglicerídeos, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e apolipoproteína B e níveis mais baixos de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Estes níveis alterados causam distúrbios significativos no eixo HPG (eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal). Norman e outros (3) relataram que a RCQ (razão cintura-quadril) elevada está associada a grandes distúrbios hormonais, particularmente na insulina. O

estudo de Iowa da Saúde da Mulher também indicou que altos valores de RCQ estavam associados a mais anormalidades menstruais e alta prevalência de infertilidade (4).

A manutenção do peso dentro de um parâmetro de normalidade tem demonstrado influência sobre a fertilidade (5-10). Além disso, melhora a resposta ao tratamento de infertilidade (9,11-13).

Como a liberação de GnRH ocorre mediante liberação de alguns hormônios, a Leptina tem demonstrado atuar nesta cascata reprodutiva (14-24).

Também deve-se ressaltar a idéia de que a alteração reprodutiva possa acontecer já na puberdade (23,25). Portanto, os objetivos deste estudo foram determinar o perfil antropométrico e os níveis de Leptina em mulheres inférteis, a relação entre estado nutricional e os níveis plasmáticos de Leptina, juntamente com a correlação do tipo de distribuição e quantidade de gordura corporal com a Leptina e identificar se há diferença nestes parâmetros em relação às mulheres férteis.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se estudo caso-controle para a avaliação de pacientes com diagnóstico de infertilidade de causa desconhecida atendidas no Setor de Reprodução Assistida do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, pelo mesmo investigador, no período de março a dezembro de 2004.

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado em um estudo piloto de 12 indivíduos, sendo 6 casos e 6 controles.

Para um nível de significância de 5%, um poder de 90%, uma razão entre as amostras de 2:1 e um tamanho do efeito de no mínimo 1,5, obteve-se um total de 27 sujeitos, sendo 18 casos e 9 controles.

O estudo foi realizado com o consentimento prévio de todas as pacientes, concedido por escrito, após esclarecimento da finalidade do trabalho e da necessidade da colaboração das mesmas em cumprir o cronograma proposto.

Em relação aos casos, os critérios de inclusão foram o consentimento em participar da investigação proposta, após devidamente informada, ocasião em que as pacientes assinaram o termo de consentimento; idade entre 18 e 35 anos; que não tivessem filhos biológicos e estivessem em tratamento no Setor de Reprodução Assistida do HCPA; diagnóstico de infertilidade de causa desconhecida. Esta foi caracterizada pela ausência de gestação após pelo menos um ano de relacionamento sexual regular e na ausência do uso de qualquer método anticoncepcional e após ausência de diagnóstico específico em relação à causa da infertilidade mediante investigação do casal baseada em causa anatômica feminina, hormonal feminina e masculina (26).

Já os critérios de exclusão foram pacientes que usavam medicação para alterações hormonais, dislipidemia e Diabete Mellitus, hipo ou hipertireoidismo, haviam realizado ou estavam em dieta hipo ou hipercalórica no último ano, perda ou aumento de peso superior a 5% em um ano, histórico de transtornos alimentares e ocorrência de gestação bem sucedida.

Em relação aos controles, os critérios de inclusão foram idade entre 18 e 35 anos, filhos biológicos e ainda idade gestacional, em acompanhamento de rotina no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do HCPA.

Já os critérios de exclusão foram semelhantes ao dos casos juntamente com ausência de gestação bem sucedida.

Avaliação antropométrica, bioquímica e dosagem de Leptina

As medidas antropométricas utilizadas para a avaliação do estado nutricional, todas realizadas pelo mesmo pesquisador, compreenderam peso em gramas (com roupas leves e sem sapatos), estatura em centímetros (posição ereta, descalço, com os calcanhares unidos e braços ao longo do corpo) circunferência da cintura (ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca), circunferência abdominal e do quadril em centímetros, juntamente com dobra cutânea tricéptica (DCT) em mm², circunferência de braço (CB), área muscular de braço (AMB) e Índice de Massa Corporal. Para tais medidas, foram utilizadas balança antropométrica digital Urano® (capacidade 180kg), fita métrica de fibra de vidro, caneta dermatográfica e plicômetro tipo *Lange*®.

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado através da fórmula: $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{altura (m)}^2$ (27) (tabela 1) e o índice de cintura-quadril foi calculado através da razão entre a medida da circunferência abdominal e da circunferência do quadril (28) Para a classificação da taxa de gordura corporal, foi utilizado Lohman (29).

Tabela 1 - Classificação do Índice de Massa Corporal

Valor de IMC (Kg/m²)	Classificação
≤ 18,5	Abaixo do peso
18,6 - 24,9	Eutrofia
25,0 - 29,9	Sobrepeso
≥ 30,0	Obesidade

Fonte: OMS, 1998.

Quando a paciente estava em ortostatismo, foi considerada cintura a menor circunferência entre a reborda costal inferior e a crista ilíaca; como quadril a maior

circunferência medida entre os grandes trocanteres, segundo a Organização Mundial de saúde (27). Definiu-se como obesidade androgênica quando a relação cintura/quadril fosse maior que 0,85 e como obesidade ginecóide quando essa relação fosse menor que 0,85 (30).

A Leptina foi medida por radioimunoensaio (Kit Human Leptin IRMA DLS - 23100, Texas), realizado no Setor de Radioimunoensaio do HCPA. Esse Kit foi comparado a outros disponíveis no mercado (Linco Research) e obteve $r = 0,98$. A concentração mínima detectável de Leptina foi de 0,1 ng/ml, com coeficientes de variação intra- e interensaios inferiores a 3 e 7%, respectivamente.

Avaliação bioquímica – Constou de colesterol total + frações e triglicerídeos, que serão dosados pelo laboratório de pesquisa do HCPA, pelos métodos convencionais.

Tanto a Leptina quanto as avaliações bioquímicas foram realizadas pela manhã, com jejum prévio de 12h.

Análise estatística

As variáveis quantitativas com distribuição simétrica foram descritas através de média e desvio padrão e as com distribuição assimétrica através de mediana e percentis 25-75. As variáveis qualitativas foram descritas através de freqüências absolutas e relativas.

Para comparar os grupos em relação às variáveis quantitativas com distribuição simétrica e assimétrica, foram utilizados, respectivamente os testes t-Student e Mann-Whitney.

Devido à assimetria dos níveis de Leptina, para avaliar a associação entre esta variável e as demais variáveis quantitativas foi aplicada a correlação de Spearman (r_s).

Para prever os níveis de Leptina e controlar possíveis variáveis de confusão, o modelo de regressão linear múltipla foi utilizado. Para que fosse possível a realização deste modelo, foi aplicada uma transformação logarítmica nos dados referentes aos níveis de Leptina. Foram utilizados também os coeficientes de regressão padronizados (beta) para identificar as variáveis com maior poder de predição.

O nível de significância adotado foi de 5%, portanto, valores de $P \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

As análises foram realizadas no programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 10.0.

RESULTADOS

Foram incluídas no estudo 28 mulheres acompanhadas no Serviço de Ginecologia do HCPA. Destas, 18 haviam recebido diagnóstico de infertilidade de causa desconhecida

(casos) e 10 realizam consultas de rotina (controles). A média de idade foi $34,8 \pm 4,0$ e $31,8 \pm 5,4$ respectivamente, sem apresentar diferença estatística entre os grupos ($p=0,106$). O IMC também não diferiu significativamente ($p=0,122$), sendo $22,3 \pm 2,8$ nas inférteis e $24,3 \pm 3,5$ nas férteis. Em relação a RCQ, não houve diferença estatística ($p=0,364$), com valores de $0,79 \pm 0,05$ nos casos e $0,81 \pm 0,06$ nas controles. Triglicerídeos e colesterol total também não apresentaram diferença estatística entre os grupos ($p=0,286$) e ($p=0,259$) respectivamente.

Houve diferença estatística entre %GC entre os grupos, sendo $31,6 \pm 3,9$ nos casos e $35,4 \pm 4,4$ nas controles ($p=0,027$), assim como na circunferência da cintura ($74,1 \pm 6,8$ casos e $80,3 \pm 6,3$ controles; $p=0,025$) e quadril ($93,4 \pm 6,1$ casos e $99,2 \pm 7,7$ controles; $p=0,037$).

Em relação à Leptina houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,001$), expressa no Gráfico 1, e o mesmo em relação ao HDL ($p=0,003$). Estes dados estão resumidos na Tabela 2 (características da amostra de mulheres conforme o grupo).

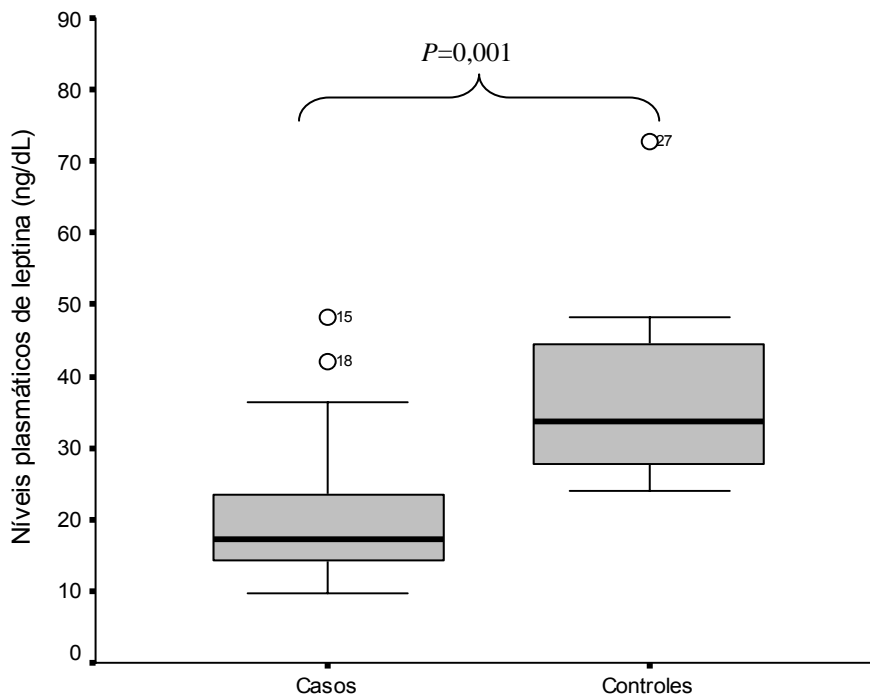


Gráfico 1 – Níveis Plasmáticos de Leptina em Mulheres Férteis e Inférteis

Tabela 2 – Caracterização da amostra de mulheres conforme o grupo

Características	Casos (n=18)	Controles (n=10)	P
Idade*	34,8 ± 4,0	31,8 ± 5,4	0,106
IMC*	22,3 ± 2,8	24,3 ± 3,5	0,122
GC (%)*	31,6 ± 3,9	35,4 ± 4,4	0,027
Cintura *	74,1 ± 6,8	80,3 ± 6,3	0,025
Quadril *	93,4 ± 6,1	99,2 ± 7,7	0,037
RCQ *	0,79 ± 0,05	0,81 ± 0,06	0,364
Leptina **	17,3 (14,1 – 25,7)	33,7 (27,1 – 45,4)	0,001
Triglicerídeos **	66,0 (50,8 – 100,8)	81,5 (55,0 – 105,5)	0,286
Colesterol total *	173,8 ± 27,0	163,1 ± 14,8	0,259
HDL *	59,8 ± 11,9	46,2 ± 7,4	0,003

Legenda: IMC=índice de massa corporal; GC=Gordura corporal;
RCQ=Razão Cintura Quadril

* Média ± DP

** Mediana (P25 – P75)

Houve correlação significativa entre os níveis plasmáticos de Leptina e a circunferência do quadril ($r = 0,58$; $p = 0,001$) (Figura 1) e a cintura ($r = 0,56$; $p = 0,002$) (Figura 2) e o IMC ($r = 0,51$; $p = 0,006$) (Figura 3).

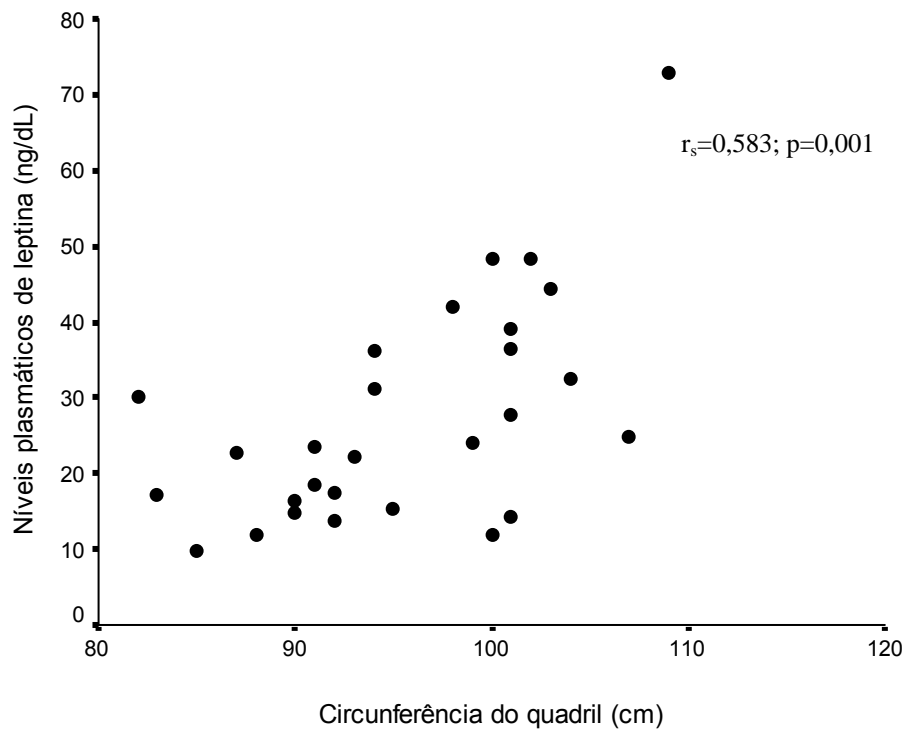


Figura 1- Correlação linear positiva entre Leptina e circunferência de quadril em mulheres férteis e inférteis (análise de regressão linear)

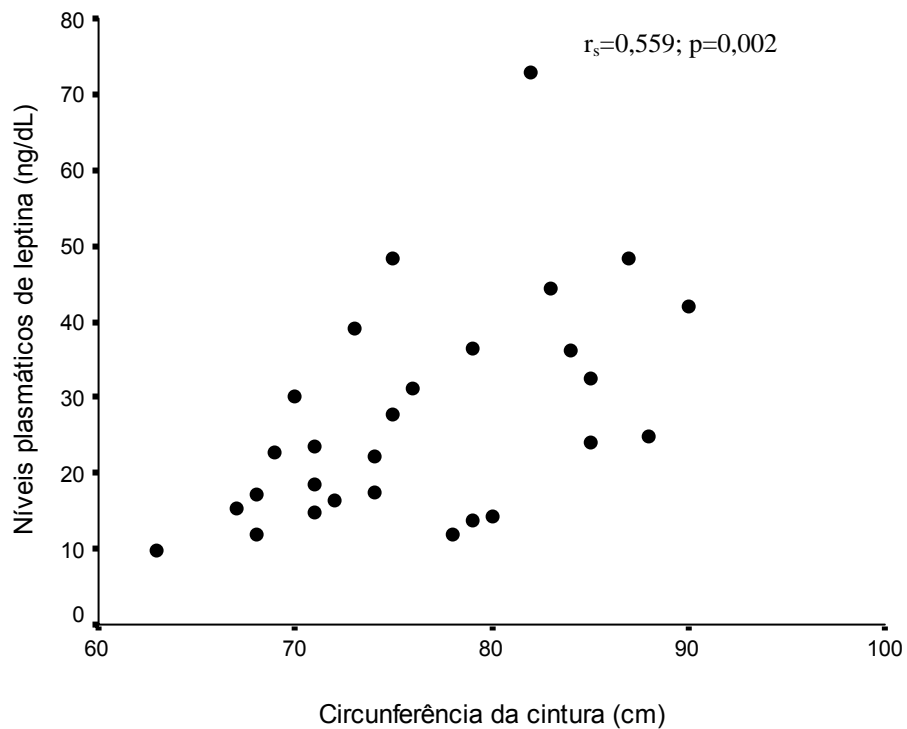


Figura 2 - Correlação linear positiva entre a Leptina e a circunferência de cintura em mulheres férteis e inférteis (análise de regressão linear)

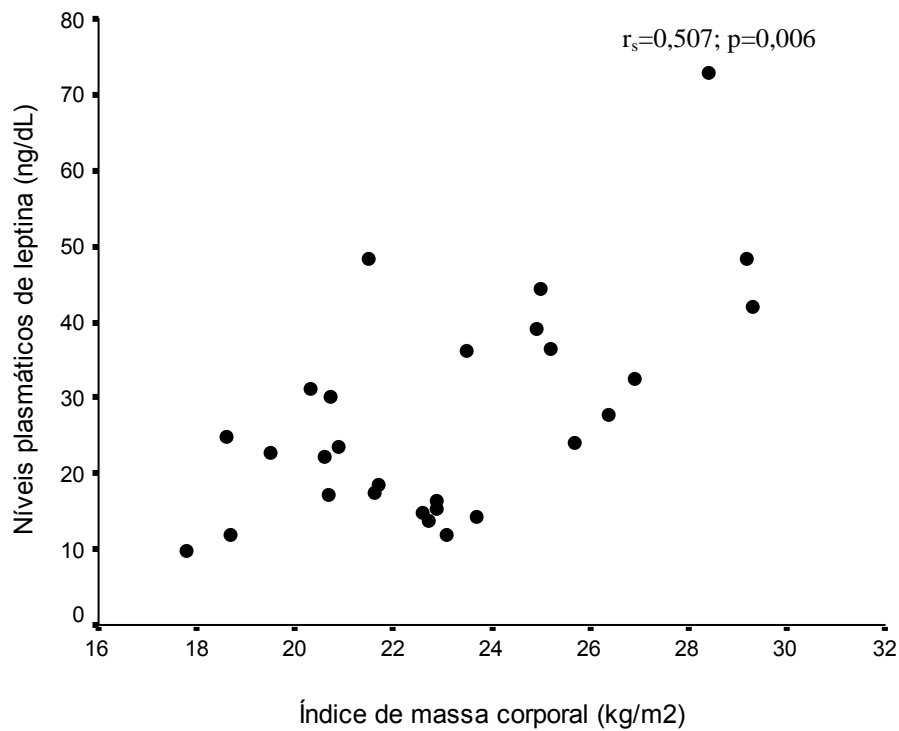


Figura 3 - Correlação linear positiva entre a Leptina e o IMC em mulheres férteis e inférteis (análise de regressão linear)

O modelo de regressão linear apresentou três preditores estatisticamente significativos para os níveis de Leptina: IMC, GC(%) (porcentagem de gordura corporal) e grupo. Através do coeficiente de correlação padronizado (beta), verificou-se que as variáveis que mais explicam a variabilidade dos níveis de Leptina são, respectivamente, IMC, grupo e percentual de gordura corporal (Tabela 3).

Tabela 3 - Modelo de regressão linear utilizado na obtenção dos preditores para níveis de Leptina

Variáveis	Beta	P
Idade	-0,042	0,778
IMC	0,712	0,016
GC (%)	-0,536	0,042
Cintura	0,399	0,093
Quadril	-0,090	0,711
Triglicérides	0,145	0,461
HDL	0,111	0,499
Grupo	-0,557	0,002

Modelo logarítmico: $F_{(8,18)} = 7,455; p < 0,001; R^2 = 76,8\%$

DISCUSSÃO

O presente estudo confirma as descobertas de que as mulheres incapazes de conduzir uma gestação a termo possuem níveis mais baixos de Leptina.

A ausência de diferença significativa entre os grupos em relação à idade ($p=0,106$), IMC ($p=0,122$), RCQ ($p=0,037$) facilitou a comparação entre os grupos em relação à Leptina, pois como citado anteriormente, o peso abaixo ou acima do normal, assim como o aumento da gordura abdominal (maior RCQ), poderiam influenciar os níveis plasmáticos de Leptina (31-33).

No que se refere às diferenças significativas encontradas em relação à taxa de gordura corporal ($p=0,027$), circunferência da cintura ($p=0,025$) e quadril ($p=0,037$), houve maiores valores destas variáveis no grupo controle, o que poderia justificar também os maiores valores de Leptina neste grupo, demonstrando a associação positiva, bem descrita na literatura entre tecido adiposo e Leptina (31-33).

Em relação ao HDL, o qual apresentou diferença significativa entre os grupos ($p=0,003$), há indícios de que a gordura central eleve os níveis de LH, androstenediona, estrona, insulina, triglicerídeos, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e apolipoproteína B e níveis mais baixos de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Esses níveis alterados causam distúrbios significativos no eixo HPG (eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal) normal e resultam em efeitos ginecológicos diferentes (34). Em relação à Leptina, houve diferença estatística entre os grupos ($p=0,001$), sendo reforçada esta importância após termos realizado o coeficiente de correlação padronizado beta ($R^2=76,8\%$; $p<0,001$), o qual demonstrou que o grupo é o maior preditor para níveis de Leptina. Valores semelhantes de Leptina em mulheres com dificuldade de gestar foram encontrados em outros estudos (35). Mulheres que sofriam aborto de repetição tinham níveis significativamente menores do que as que tiveram gestação a termo, além de níveis de Leptina semelhantes aos encontrados em nosso estudo (36,41,42).

No estudo realizado em mulheres com amenorréia hipotalâmica funcional, estas também apresentaram níveis mais baixos de Leptina comparado às suas controles de mesmo IMC (37), o que sugeriu que o equilíbrio energético possa interferir nos níveis de Leptina, IMC e peso corporal.

Um estudo realizado em 2001 mostrou que as mulheres que tiveram gestação a termo apresentaram níveis de Leptina maiores do que os das com abortos de repetição (38).

Há evidências de que o desequilíbrio de energia possa regular a secreção de Leptina, independentemente das reservas de gordura corporal (39). A Leptina influencia a secreção pulsátil de GnRH-LH e do eixo central do CRH-ACTH-cortisol. Especificamente, a redução da Leptina pode induzir diretamente a uma diminuição do LH. Evidências recentes sugerem

que o baixo consumo alimentar pode suprimir a pulsatilidade de LH pela Leptina (40). Estudos sugerem que mulheres que sofrem de abortos repetidos têm níveis mais baixos de Leptina (36,41,42).

No que se refere ao IMC e %GC como preditores dos níveis de Leptina, isso talvez seja devido ao fato de os controles apresentarem valores maiores em relação à composição corporal, o que parece estar claro na literatura para pessoas sem alteração na fertilidade (32,43-45).

Não houve análise de dosagens hormonais específicas, que poderiam ter sido correlacionadas com a Leptina como estradiol e progesterona.

Como citado por alguns autores, as modificações hormonais mediadas pela Leptina demonstram associação diferente da que se pensou originalmente. Por exemplo, o estradiol afeta a Leptina independentemente da taxa de gordura (46).

Um estudo demonstrou que o estradiol está inversamente associado à deposição central de gordura e positivamente em relação à periférica (47).

Os níveis de Leptina alteram conforme a fase do ciclo menstrual, e as concentrações plasmáticas aumentam na fase folicular e luteal em ciclos normais (48).

Altas concentrações de estrogênio durante ciclos de estimulação com gonadotrofinas estão associados a altas concentrações de Leptina (49).

Isso implica que a secreção e/ou ação da Leptina pode ser modulada por outros fatores além da adiposidade, e há indícios de que a Leptina possa agir na qualidade do oócito e desenvolvimento do embrião (39,40). O estradiol e a progesterona aumentam a Leptina (50-53). Inclusive há indícios de que o tratamento com estradiol e progesterona possam evitar a diminuição dos níveis de Leptina (54). Isso poderia ser tratado como um mecanismo de defesa do corpo em relação aos baixos níveis de Leptina decorrentes de alteração hormonal do eixo HPG, sugerindo que, mediante baixos níveis de Leptina, o organismo aumentaria o consumo energético e com isso regularizaria a liberação hormonal em nível pituitário-gonadal. Com isso, podemos sugerir que os baixos níveis de Leptina encontrados em pacientes com distúrbios reprodutivos, sejam na verdade uma tentativa do organismo de regularizar a alteração hormonal, pois este reconhece que a causa dessa alteração seja alguma alteração no equilíbrio energético. Isto pode ser exemplificado através da amenorréia apresentada em pacientes anoréticas. Em contrapartida, em mulheres obesas, ocorre o inverso: a principal causa seria também uma falsa ausência de combustível celular, não por ausência de consumo energético, mas por resistência à Leptina, que para o organismo se assemelha à restrição energética (semelhante à insulina-hiperglicemia, porém fome celular), encontrada em pacientes obesas (32,55). Estas apresentam altos níveis plasmáticos de Leptina, que, porém, não é reconhecida pelo organismo. Este mecanismo é semelhante ao da insulina: os diabéticos do tipo 2 produzem

insulina, porém apresentam resistência a ela. Com isso, apresentam hiperglicemia e conseqüente hiperfagia. Outra possibilidade seria que as mulheres obesas apresentam hiperfagia e conseqüente aumento dos depósitos de gordura. Como a Leptina é um hormônio produzido nos adipócitos, quanto maior a quantidade de gordura corporal, maiores os níveis de Leptina. Novamente, pode-se pensar o mesmo em relação às anoréticas: quanto menores a taxa de gordura e o consumo alimentar, menor a produção de Leptina (56).

Poderíamos pensar, com mais clareza, como um organismo com alteração na gordura corporal – baixa taxa de gordura (Leptina baixa); - alta taxa de gordura (Leptina alta) pode afetar a reprodução? Poderia ser explicado pela resistência a ela, aparentemente não há ação, logo o organismo reage como se não houvesse combustível celular. Como então o organismo seria capaz de gerar um novo ser diante deste desequilíbrio energético? Além do mais, a diminuição da TMB esclarece a idéia de guardar energia para funções mais necessárias ao organismo, e não a formação de um novo ser.

Em síntese, a Leptina fornece um nível adicional de comunicação entre o tecido adiposo e eixo reprodutivo, através do equilíbrio energético, garantindo a integridade funcional deste eixo em humanos. A Leptina pode coordenar as respostas neuroendócrinas associadas à privação energética, com ou sem variações de peso e de IMC, para não desperdiçar combustíveis metabólicos. Assim, a Leptina pode ser um fator-chave na reprodução humana.

Em nosso estudo, observamos que a Leptina se encontra em menores valores em mulheres inférteis, o que também é demonstrado por outros estudos (35-39,41,42).

Isto sugere que novas pesquisas devem ser realizadas para averiguar a ação da Leptina de forma mais específica na qualidade oocitária e no desenvolvimento embrionário, e não somente em nível ovulatório.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à estaticista Ceres Oliveira pela análise estatística, à professora Letícia Dornelles pela revisão da linguagem, à Zuleica da Silva pela revisão da formatação, à Mabel Figueiró, ao FIPE (Financeiro Fundo de Incentivo à Pesquisa) e a todos os demais profissionais do Setor de Reprodução Assistida por sua colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Clin Obstet Gynecol* 1974;185:949-51.
2. Cumming DC, Wheeler GD, Harber VJ. Physical activity, nutrition, and reproduction. *Ann NY Acad Sci* 1994;709:55-76.
3. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S. Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:58-62.
4. Hollmann M, Runnebaum B, Gerhard I. Impact of waist-hip-ratio and body-mass-index on hormonal and metabolic parameters in young, obese women. *Int J Obesity* 1997;21:476-83.
5. Norman RJ, Masters SC, Hague W, Beng C, Pannall P, Wang JX. Metabolic approaches to the sub-classification of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:329-35.
6. Moran LJ, Norman RJ. The obese patient with infertility: a practical approach to diagnosis and treatment. *Nutr Clin Care* 2002;5(6):290-7.
7. Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2002;147(6):717-25.
8. Haas DA, Carr BR, Attia GR. Effects of metformin on body mass index, menstrual cyclicity, and ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;79(3):469-81.
9. Clark AM, Ledger W, Galletly C, Tomlinson L, Blaney F, Wang X, et al. Weight loss results in significant improvement in pregnancy and ovulation rates in anovulatory obese women. *Hum Reprod* 1995;10:2705-12.
10. Parihar M. Obesity and infertility - Reviews in Gynaecological Practice 2003;3(3):120-6.
11. Homburg R, Insler V. Ovulation induction in perspective. *Hum Reprod* 2002;8(5):449-62.
12. Homburg R. Should patients with polycystic ovarian syndrome be treated with metformin? A note of cautious optimism. *Hum Reprod* 2002;17(4):853-6.
13. Wang X, Davies M, Norman RJ. Body mass and probability of pregnancy during assisted reproduction treatment: retrospective study. *Br Med J* 2000;321:1320-1.
14. Mantzoros CS. Role of leptin in reproduction. *Ann NY Acad Sci* 2000;900:174-83.
15. Cioffi J, Van Blerkom J, Antczak M, Shafer A, Wittmer S, Snodgrass HR. The statement of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod* 1997;3:467-72.
16. Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, Friedman JM. Anatomic localization of alternately spliced leptin receptors (OB-R) in mouse brain and other tissues. *Neurobiology* 1997;94:7001-5.

17. Baskin DG, Hahn TM, Schwartz MW. Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm Metab Res* 1999;31:345-50.
18. Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1023-8.
19. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996;382:250-2.
20. Nagatani S, Guthikonda P, Thompson RC, Tsukamura H, Maeda KI, Foster DL. Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology* 1998;67:370-6.
21. Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK, Steiner RA. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine axis of the monkey. *Endocrinology* 1998;139:4652-62.
22. Parent AS, Lebrethon MC, Gerard A, Vandersmissen E, Bourguignon JP. Leptin effects on pulsatile gonadotropin releasing hormone secretion from the adult rat hypothalamus and interaction with cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide and neuropeptide Y. *Regul Pept* 2000;92:17-24.
23. Frisch RE. The right weight: body fat, menarche and fertility. *Proc Nutr Soc* 1994;53:113-29.
24. Cunningham MJ, Clifton DK, Steiner RA. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol Reprod* 1999;60:216-22.
25. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996;379:632-5.
26. Passos EP, Freitas F, Cunha F^o JSI, et al. Rotinas em infertilidade e contracepção. Editora Artmed 2003.
27. WHO – World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation, Geneva, 3-5 jun 1997. Geneva, WHO. (WHO/NUT/98.1), 1998.
28. Willet W. Anthropometric Measures and Body Composition. In. *Nutritional Epidemiology*. Ed Hardcover, 1998; 245-72.
29. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Abridged edition, 1991, 90p.
30. Ashwell M, Chinn S, Stalley S, Garrow JS. Female fat distribution a simple classification based on two circumference measurements. *Int J Obes* 1982;6:143-52.
31. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5.
32. Goumenou AG, Matalliotakis IM, Koumantakis GE, Panidis DK. The role of leptin in fertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2003;106(2):118-24.

33. Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A. Leptin in reproduction. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2001;12(2):65-72.
34. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S. Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:58-62.
35. Mantzoros CS, Cramer DW, Liberman RF, Barbieri RL. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2000;15:539-44.
36. Laird SM, Quinton ND, Anstie B, Li TC, Blakemore AIF. Leptin and leptin-binding activity in women with recurrent miscarriage: correlation with pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2001;16:2008-13.
37. Andrico S, Gambera A, Specchia C, Pellegrini C, Falsetti L, Sartori E. Leptin in functional hypothalamic amenorrhoea. *Hum Reprod* 2002;17:2043-8.
38. Unkila-Kallio L, Andersson S, Koistinen HA, Karonen SL, Ylikorkala O, Tiitinen A. Leptin during assisted reproductive cycles: the effect of ovarian stimulation and of very early pregnancy. *Hum Reprod* 2001;16:657-62.
39. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes* 1996;45:1455-62.
40. Loucks AB, Heath EM. Dietary restriction reduces luteinizing hormone (LH) pulse frequency during waking hours and increases LH pulse amplitude during sleep in young menstruating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:910-20.
41. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women; a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;47:101-6.
42. Lage M, Garcia-Mayor RV, Tome MA, Cordido F, Valle-Inclan F, Considine RV, et al. Serum leptin levels in women throughout pregnancy and post-partum period and in women suffering spontaneous abortion. *Clin. Endocrinol (Oxf)* 1999;50(2):211-6.
43. Friedman CI, Kim MH. Obesity and its effect on reproductive function. *Clin Obstet Gynecol* 1985;28:645-63.
44. Ostlund Jr. RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3909-13.
45. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Muller J, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence of body mass index, gender, puberal stage and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2904-10.
46. Puder JJ, Monaco SE, Gupta SS, Wang J, Ferin M, Warren MP. Estrogen and exercise may be related to body fat distribution and leptin in young women. *Fertility and Sterility* 2006;86(3):694-9.
47. Leenen R, van der Kooy K, Seidell JC, Deurenberg P, Koppeschaar HP. Visceral fat accumulation in relation to sex hormones in obese men and women undergoing weight loss therapy, *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:1515-20.

48. Raid-Gabriel MG, Jinagouda SD, Sharma A, Boyadjian R, Saad MF. Changes in plasma leptin during the menstrual cycle. *Eur J Endocrinol* 1998;139(5):528-31.
49. Brannian JD, Schmidt SM, Kreger DO, Keith A, Hansen Baseline non-fasting serum leptin concentration to body mass index ratio is predictive of IVF outcomes. *Hum Reprod* 2001;16(9):1819-26.
50. Paolisso G, Rizzo MR, Mone CM, Tagliamonte MR, Gambardella A, Riondino M, et al. Estradiol and progesterone increase leptin. Plasma sex hormones are significantly associated with plasma leptin concentration in healthy subjects. *Clin Endocrinol* 1998;48:291-7.
51. Quinton ND, Laird SM, Okon MA, Li TC, Smith RF, Ross RJ, Blakemore AI. Serum leptin levels during the menstrual cycle of healthy fertile women. *Br J Biomed Sci* 1999;56(1):16-19.
52. Ludwig M, Klein HH, Diedrich K, Ortmann O. Serum leptin concentrations throughout the menstrual cycle. *Arch Gynecol Obstet* 2000;263:99-101.
53. Messinis IE, Papageorgiou I, Milingos S, Asproдини E, Kollios G, Seferiadis K. Oestradiol plus progesterone treatment increases serum leptin concentrations in normal women. *Hum Reprod* 2001;16:1827-32.
54. Messinis E, Kariotis I, Milingos S, Kollios G, Seferiadis K. Treatment of normal women with oestradiol plus progesterone prevents the decrease of leptin concentrations induced by ovariectomy. *Hum Reprod* 2000;15:2383-7.
55. Bernardis LL, Bellinger LL. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1998 update. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;218:284–306.
56. Chan JL, Mantzoros CS. Role of leptin in energy-deprivation states: normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhoea and anorexia nervosa. *The Lancet* 2005;366(9479):74-85.

ANEXO - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O projeto de pesquisa intitulado "Avaliação antropométrica e dos níveis plasmáticos de Leptina em homens e mulheres inférteis do setor de Reprodução Assistida do HCPA" será desenvolvido dentro do hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Algumas desordens nutricionais estão associadas com alterações do ciclo ovulatório em mulheres e qualidade espermática em homens. Este estudo visa analisar a composição corporal e níveis plasmáticos de Leptina no setor de Reprodução Assistida do HCPA. Para exames complementares do protocolo, será necessário apenas coleta de sangue, e não envolve qualquer risco de vida para os pacientes.

Eu,
fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa face à estas informações.

Me foi certificado de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado que caso existam danos à minha saúde causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

.....

Assinatura paciente

Data:

.....

Assinatura pesquisador