

Hiperandrogenismo em mulheres obesas pré e pós-menopáusicas – estudo retrospectivo

Mesquita J¹, Souto S¹, Oliveira A^{1,2}, Freitas P^{1,2}, Varela A^{1,2}, Matos MJ^{1,2}, Ferreira M³, Correia F^{1,4}, Carvalho D^{1,2}, Carvalho Braga D¹, Medina JL^{1,2}

¹Serviço de Endocrinologia do Hospital de S. João, EPE; ²Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; ³Departamento de Matemática da Universidade do Minho; ⁴Faculdade Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Correspondência:

Dra. Joana Mesquita › Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo › Hospital S. João › Alameda Hernâni Monteiro › 4200-415 Porto
E-mail: joanamesquita1@gmail.com

RESUMO

A obesidade tem sido associada a aumento da androgenicidade na mulher, existindo, contudo, discrepâncias nos resultados encontrados em diferentes trabalhos. Os objectivos deste estudo foram determinar a existência de correlação dos níveis de androgénios ou de SHBG com o índice de massa corporal (IMC), a razão perímetro da cintura/perímetro da anca (Pc/Pa) e a idade, e avaliar a dependência do aumento dos androgénios da presença de obesidade mórbida ou de síndrome metabólica (SM). Foram avaliadas 148 mulheres obesas na primeira Consulta de Obesidade Mórbida do Hospital de S. João, EPE: 105 pré-menopáusicas e 43 pós-menopáusicas. Avaliaram-se variáveis antropométricas, níveis plasmáticos de androgénios (testosterona total – TT, testosterona livre – TL, sulfato de dihidroepiandrosterona – DHEA-S, androstenediona – A) e de globulina de ligação às hormonas sexuais – SHBG. Para determinar a existência de relação linear entre variáveis utilizou-se o coeficiente de correlação e para avaliar a dependência entre variáveis utilizou-se o teste exacto de Fisher. As doentes tinham idade média de 41,8±11,7 anos e IMC de 40,5±7,5Kg/m². Nas mulheres pré-menopáusicas, o IMC estava negativamente correlacionado com a SHBG ($r=-0,21$; $p<0,05$) e positivamente correlacionado com a TL ($r=0,27$; $p<0,05$) e com a androstenediona ($r=0,25$; $p<0,05$). A idade estava correlacionada de forma negativa com a TL ($r=-0,26$; $p<0,05$), a TT ($r=-0,26$; $p<0,05$), a DHEA-S ($r=-0,35$; $p<0,05$), a androstenediona ($r=-0,33$; $p<0,05$) e com a razão T/SHBG ($r=-0,34$; $p<0,05$). Havia uma correlação positiva entre a Pc/Pa e a DHEA-S ($r=0,2$; $p<0,05$). Por seu lado, nas mulheres pós-menopáusicas, apenas se encontrou uma correlação negativa entre o IMC e a SHBG ($r=-0,46$; $p<0,05$). Não foi encontrada dependência entre a elevação dos níveis de androgénios e a existência de obesidade mórbida ou síndrome metabólica. Em conclusão, neste estudo encontrou-se correlação quer do IMC, quer da idade com alguns dos androgénios em estudo apenas nas mulheres pré-menopáusicas.

PALAVRAS-CHAVE:

Obesidade; Androgénios; Menopausa.

SUMMARY

Obesity has been associated with increased androgenicity in women, however there are conflicting data on this subject. The objectives of this study were to determine whether any androgen is independently related to body mass index (BMI), waist-to-hip ratio (WHR) or age and to assess if there is an association between elevated plasma androgen levels and the presence of either morbid obesity or metabolic syndrome (MS). A total of 148 obese women were evaluated in their first obesity medical appointment at Hospital de São João: 105 premenopausal and 43 postmenopausal. Anthropometric variables, plasma androgen (total testosterone – T, free testosterone – FT, dehydroepiandrosterone

sulfate – DHEA-S, androstenedione) and sex hormone binding globulin (SHBG) concentrations were measured. The correlation coefficient and Fisher's exact test were used, respectively, to determine the strength of the linear relationship and to evaluate the non-random association among variables. The patients had mean age of 41.8 ± 11.7 years and mean BMI of 40.5 ± 7.5 Kg/m². In premenopausal women, BMI was negatively correlated with SHBG ($r = -0.21$; $p < 0.05$) and positively correlated with FT ($r = 0.27$; $p < 0.05$) and androstenedione ($r = 0.25$; $p < 0.05$). Age was negatively correlated with FT ($r = -0.26$; $p < 0.05$), T ($r = -0.26$; $p < 0.05$), DHEA-S ($r = -0.35$; $p < 0.05$), androstenedione ($r = -0.33$; $p < 0.05$) and T/SHBG ratio ($r = -0.34$; $p < 0.05$). There was a positive correlation between WHR and DHEA-S ($r = 0.2$; $p < 0.05$). On the other hand, in postmenopausal women, there was only a negative correlation between BMI and SHBG ($r = -0.46$; $p < 0.05$). There wasn't an association between elevated serum androgen levels and the presence of morbid obesity or metabolic syndrome (MS). In conclusion, in this study it was found a correlation between BMI and age with some of the studied androgens, only in premenopausal women.

KEY-WORDS

Obesity; Androgens; Menopause.

INTRODUÇÃO

O excesso de peso e a obesidade podem modular a síntese e o metabolismo das hormonas endógenas, nomeadamente das hormonas sexuais e da insulina, bem como das suas proteínas de transporte. Entre os efeitos estabelecidos da obesidade, nas hormonas endógenas circulantes, estão a redução progressiva da SHBG com o aumento do IMC em mulheres na pré- e pós-menopausa e a associação directa com os estrogénios, sobretudo nas mulheres pós-menopáusicas¹.

Em termos genéricos, tem sido proposto que na mulher, com o aumento do IMC, tende a haver diminuição da concentração de SHBG, aumento da concentração de testosterona livre, aumento do índice de androgénios livres^{2,3,4}, ausência de alteração ou aumento da concentração de testosterona total^{1,5,6}, diminuição da concentração da DHEA e da DHEA-S^{7,8,9}.

Por outro lado, o hiperandrogenismo *per se* pode favorecer o aumento da gordura visceral nas mulheres¹⁰ e pode afectar, directamente, a sensibilidade à insulina nos tecidos alvo, contribuindo para o desenvolvimento de um estado de insulinoresistência^{10,11}.

Ainda, o envelhecimento acarreta diminuição da síntese proteica e aumento da gordura corporal^{12,13}, estando também descrita uma alteração dos níveis das hormonas sexuais ao longo da vida^{14,15,16,17}: aumento durante a puberdade e posterior diminuição com a idade.

Assim, é importante compreender as alterações das hormonas sexuais, nomeadamente dos androgénios, associadas à obesidade e à idade, uma vez que existem cada vez mais evidências epidemiológicas que as associam a diferentes distúrbios metabólicos^{18,19,20,21}, à doença cardiovascular^{22,23,24} e ao risco de vários carcinomas (mama, endométrio, ovário, colo-rectal)¹, situações essas que, com a adopção de estilos de vida saudáveis, poderão ser prevenidas ou até modificadas^{1,2,11,25,26}.

No que respeita à menopausa, esta ocorre secundariamente à perda de folículos ovários programada geneticamente. Caracteriza-se por alterações *major* na concentração das hormonas sexuais, nomeadamente diminuição dos níveis de estradiol e diminuição da testosterona, embora menos marcada^{27,28}. Note-se que a influência do IMC sobre os níveis circulantes de hormonas esteróides sexuais, ocorre quer nas mulheres pré, quer nas pós-menopáusicas. No entanto, apesar de existirem menos estudos nesta fase^{1,29}, este efeito parece ser maior após a menopausa, pela ausência dos mecanismos potentes de retro-regulação que controlam a síntese de androgénios e estrogénios antes da menopausa¹.

Tendo por base estes dados, os objectivos deste estudo foram: determinar a existência de correlação entre os níveis de androgénios ou SHBG e o IMC, a razão Pc/Pa e a idade, e avaliar a dependência do aumento dos níveis de androgénios da presença de obesidade mórbida ou de síndrome metabólica.

MÉTODOS

Este estudo consistiu numa avaliação retrospectiva de 148 mulheres obesas na primeira Consulta de Obesidade Mórbida do Hospital de São João, EPE: 105 pré-menopáusicas e 43 pós-menopáusicas. Avaliaram-se variáveis antropométricas, tensão arterial, níveis plasmáticos de androgénios (TT, TL, DHEA-S, A), SHBG, triglicerídeos, colesterol HDL e glicose plasmática em jejum. Para definir SM utilizaram-se os critérios da Federação Internacional de Diabetes de 2005.

A análise estatística foi feita em Microsoft Excel. Para determinar a existência de relação linear entre variáveis utilizou-se o coeficiente de correlação e para avaliar a dependência entre variáveis utilizou-se o teste exacto de Fisher.

Na selecção da amostra, excluíram-se as doentes medicadas habitualmente com anti-conceptivos orais ou terapêutica hormonal de substituição, bem como mulheres com hábitos alcoólicos ou tabágicos.

Definiu-se como limite superior de normalidade: T total=0,82 ng/mL; T livre=2,03 pg/mL; DHEA-S=430 µg/dL; Androstenodiona=3,08 ng/mL. Definiu-se como limite inferior de normalidade para a SHBG um valor de 20,0 nmol/L.

A pós-menopausa foi definida pela clínica (amenorreia há pelo menos 1 ano), pela idade (≥ 48 anos) e pela FSH ($>25,8$ UI/L). A pré-menopausa foi definida pela idade, presença de períodos menstruais nos últimos 3 meses, ausência de aumento das irregularidades menstruais no último ano e pelo nível de FSH.

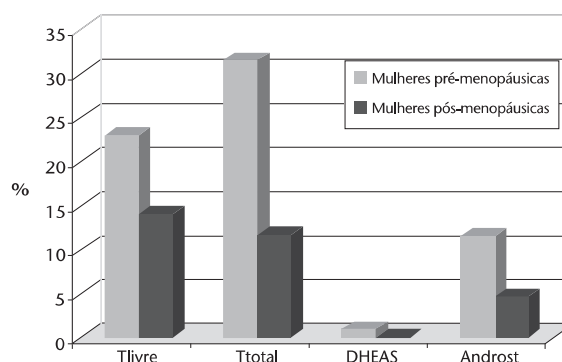
Nas mulheres em idade fértil, as medições foram feitas na fase folicular, entre o 5º e o 7º dias do ciclo menstrual.

RESULTADOS

No total de 148 doentes, a idade média foi de $41,8 \pm 11,7$ anos e o IMC de $40,5 \pm 7,5$ Kg/m². Destas 60,1% tinham obesidade mórbida (58,1% das mulheres pré-menopáusicas e 65,1% das pós-menopáusicas) e 48,0% tinham SM (40,0% das mulheres pré-menopáusicas e 67,4% das pós-menopáusicas).

Nenhuma das doentes tinha SHBG abaixo do limite inferior de normalidade. A figura 1 ilustra a percentagem de androgénios aumentados nos dois grupos de mulheres estudadas. Verifica-se que uma percentagem significativa das mulheres apresenta hiperandrogenismo, sobretudo na pré-menopausa.

FIGURA 1: Androgénios acima do limite superior de normalidade nas mulheres obesas pré e pós-menopáusicas.



Na tabela I estão representados os valores médios dos diferentes parâmetros em estudo, na pré e na pós-menopausa.

Nas mulheres pré-menopáusicas, o IMC estava negativamente correlacionado com a SHBG ($r=-0,21$; $p<0,05$) e positivamente correlacionado com a TL ($r=0,27$; $p<0,05$) e com a androstenodiona ($r=0,25$; $p<0,05$). A idade estava correlacionada de forma negativa com a TL ($r=-0,26$; $p<0,05$), a T ($r=-0,26$; $p<0,05$), a DHEA-S ($r=-0,35$; $p<0,05$), a androstenodiona ($r=-0,33$; $p<0,05$) e a razão T/SHBG ($r=-0,34$; $p<0,05$). Havia uma correlação positiva entre a razão Pc/Pa e a DHEA-S ($r=0,2$; $p<0,05$). Por seu lado, nas mulheres pós-menopáusicas, apenas se encontrou uma correlação negativa entre o IMC e a SHBG ($r=-0,46$; $p<0,05$).

TABELA I – Caracterização da amostra de mulheres em estudo

	Pré-menopausa	Pós-menopausa
Testosterona total (N: 0,06-0,82 ng/mL)	2,7±10,4	0,5±0,3
Testosterona livre (N: 0,15-2,03 pg/mL)	1,3±1,4	1,4±2,1
DHEA-S (N:35-430 µg/dL)	203,4±117,6	122,5±84,8
Androstenodiona (N:0,21-3,08 ng/mL)	2,0±1,0	1,6±0,8
SHBG (N: 20,0-130,0 nmol/L)	82,9±71,4	47,4±23,0
Idade (anos)	36,7±8,1	55±7,3
IMC (Kg/m ²)	40,4±7,4	41,6±6,1
Pc/Pa (cm)	0,9±0,1	0,9±0,1

Não foi encontrada dependência entre a elevação dos níveis de androgénios em estudo e a existência de obesidade mórbida ou síndrome metabólica em nenhum dos grupos.

DISCUSSÃO

Este estudo retrospectivo evidenciou uma correlação negativa entre o IMC e a SHBG, quer na pré, quer na pós-menopausa. De facto, a concentração da SHBG depende do balanço entre factores estimulantes, como os estrogénios, a gravidez, os contraceptivos orais^{30,31}, alguns anti-epilépticos^{32,33}, o hipertiroidismo^{34,35} e factores inibitórios, como os androgénios, a insulina, o excesso de peso, a obesidade³² e o hipotiroidismo³⁴. Existem ainda estudos que sugerem que parte da variabilidade dos níveis de SHBG nas mulheres se associa a polimorfismos e mutações localizadas nas sequências codificadoras e não codificadoras do gene humano SHBG³⁶.

À medida que aumenta o IMC, aumenta a insulinoresistência e a hiperinsulinemia, que inibe a produção hepática de SHBG^{11,22}, o que pode justificar estes resultados. Contudo, existem estudos que apontam para uma relação entre a SHBG e a massa gorda, independente da insulina³⁶. A perda de peso em mulheres obesas, por seu lado, resulta em aumento da SHBG².

Foi ainda encontrada correlação do IMC com alguns dos androgénios em estudo, apenas nas mulheres pré-menopáusicas, o que está de acordo com a literatura. À medida que o IMC aumenta, a diminuição da SHBG, com consequente aumento da biodisponibilidade androgénica¹, e o aumento da síntese de androgénios ováricos, devido ao efeito gonadotrófico da insulina^{11,37,38}, levam a aumento da testosterona livre e do índice de androgénios (razão testosterona total/SHBG *100)^{18,39,40} que reflecte a testosterona livre.

Foi ainda proposto que a relação entre o IMC e os androgénios é mediada por alterações no sistema dos factores de crescimento insulínicos, particularmente o IGF-I. Estudos *in vitro* mostraram que o IGF-I pode estimular a síntese de androgénios ováricos ou supra-renais e até modular a síntese de gonadotrofinas hipotalâmicas¹.

Na ausência de mecanismos de acção conhecidos para a DHEA especula-se que esta estimule a produção de IGF-I ou os receptores GH hepáticos, ou iniba a produção hepática de proteínas de ligação à IGF (IGFBP), aumentando os níveis circulantes de IGF-I. Além disso a produção de IGFB-I é suprimida pela insulina¹².

Há ainda estudos que apontam para uma associação inversa do IGF-I com a SHBG¹.

A ausência de correlação entre a testosterona total e o IMC pode ser explicada pelo balanço entre a diminuição da SHBG e o aumento de produção androgénica.

Por seu lado, nos homens, a quantidade de gordura visceral não parece ser importante no metabolismo das hormonas sexuais. Assim, nas mulheres, mas não nos homens, a perda de gordura visceral acompanha-se de uma redução relativa da androgenicidade. Parece, pois, haver uma diferença entre os dois sexos no que respeita a relação entre a regulação das hormonas sexuais e o predomínio da gordura visceral².

No que respeita à idade, a correlação encontrada com alguns dos androgénios em estudo, justifica-se pela diminuição dos níveis de hormonas sexuais ao longo da vida. A testosterona, a androstenodiona e a dihidroepiandrosterona atingem o pico na 3ª década e, posteriormente, diminuem de forma gradual^{14,15,16,17}, mais cedo que o início do défice de estrogénios^{16,17,41}. Além disso, aparentemente o IGF-I sofre alterações paralelas às hormonas sexuais, ao longo da vida¹.

Quando se compara os valores médios dos androgénios e da SHBG na pré e na pós-menopausa (Tabela I), constata-se que o IMC e razão Pc/Pa são semelhantes nos dois grupos, mas a testosterona livre média no segundo grupo é maior do que na pré-menopausa, apesar da testosterona total ser menor, provavelmente em consequência de terem um valor médio de SHBG menor, quer pela maior idade, quer pela menopausa *per si*.

É ainda de referir que neste estudo se excluíram as mulheres que faziam anticoncepcionais ou terapia hormonal de substituição porque ambos aumentam a SHBG e diminuem a biodisponibilidade androgénica. O tabagismo, por seu lado, está associado a aumento da concentração sérica de testosterona⁴².

CONCLUSÃO

A obesidade tem sido associada ao hiperandrogenismo e diferentes mecanismos fisiopatológicos têm sido propostos. Neste trabalho, baseado em dados recolhidos na consulta de Obesidade Mórbida relativos a 148 mulheres, encontraram-se valores de SHBG progressivamente menores para valores crescentes de IMC, quer nas mulheres em idade fértil, quer na pós-menopausa. Encontrou-se ainda correlação do IMC com a TL e com a A, bem como da idade com a TL, a TT, a DHEA-S, a A e a razão T/SHBG nas mulheres pré-menopáusicas. Estes resultados estão de acordo com a literatura existente.

BIBLIOGRAFIA

1. Lukanova A, Lundin E, Zeleniuch-Jacquotte A, et al. Body mass index, circulating levels of sex-steroid hormones, IGF-I and IGF-binding protein-3: a cross-sectional study in healthy women. *Eur J Endocrinol* 2004; 150(2): 161-71.
2. Leenen R, Van der Koy K, Seidell JC, Deurenberg P, Kopperschaar HPF. Visceral fat accumulation in relation to sex hormones in obese men and women undergoing weight loss therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(6): 1515-20.
3. Kirschner MA, Samojlik E. Sex hormone metabolism in upper and lower body obesity. *Int J Obesity* 1991; 15(Suppl 2): 101-8.
4. Seidell JC, Cigolini M, Charzewska J, et al. Androgenicity in relation to body fat distribution and metabolism in 38-year-old women – the European fat distribution study. *J Clin Epidemiol* 1990; 43(1): 21-34.
5. Morales AJ, Laughlin GA, Bützow T, Maheshwari H, Baumann G, Yen SS. Insulin, somatotrophic and luteinizing hormone axes in lean and obese women with polycystic ovary syndrome: common and distinct features. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(8): 2854-64.
6. Zeleniuch-Jacquotte A, Bruning PF, Bonfrer JM, et al. Relation of serum levels of testosterone and dehydroepiandrosterone sulphate to risk of breast cancer in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1997; 145(11): 1030-8.
7. De Pergola G, Giagulli VA, Garruti G, et al. Low dehydroepiandrosterone circulating levels in premenopausal obese women with very high body mass index. *Metabolism* 1991; 40(2): 187-190.
8. Hernandez-Morante JJ, Milagro F, Gabaldon JA, Martinez JA, Zamora S, Garaulet M. Effect of DHEA-sulfate on adiponectin gene expression in adipose tissue from different fat depots in morbidly obese humans. *Eur J Endocrinol* 2006; 155(4): 593-600.
9. Garaulet M, Pérex-Llamas F, Fuente T, Zamora S, Tebar Fj. Anthropometric, computed tomography and fat-cell data in an obese population: relationship with insulin, leptin, tumor necrosis factor-alpha, sex hormone-binding globulin and sex hormones. *Eur J Endocrinol* 2000; 143(5): 657-666.
10. Björntorp P. Hyperandrogenicity in women – a prediabetic condition? *J Intern Med* 1993; 234(6): 579-583.
11. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, et al. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(8): 2767-2774.
12. Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SS. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(6): 1360-1367.
13. Corpas E, Harman M, Blackman MR. Human growth hormone and human aging. *Endocr Rev* 1993; 14(1): 20-39.
14. Denti L, Pasolini G, Sanfelici L, et al. Effects of aging on dehydroepiandrosterone sulphate in relation to fasting insulin levels and body composition assessed by bioimpedance analysis. *Metabolism* 1997; 46(7): 826-832.
15. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59(3): 551-5.
16. Longcope C, Johnston CC Jr. Androgen and estrogen dynamics: stability over a two year interval in peri-menopausal women. *J Steroid Biochem* 1990; 35(1): 91-5.
17. Arnold JT, Le H, McFann KK, Marc RB. Comparative effects of DHEA vs testosterone, dihydrotestosterone and estradiol on proliferation and gene expression in human LNCap prostate cancer cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(3): 573-584.
18. Tchernof A, Toth MJ, Poehlman ET. Sex hormone-binding globulin levels in middle-aged premenopausal women. Associations with visceral

- obesity and metabolic profile. *Diabetes Care* 1999; 22(11): 1875-81.
19. Pugeat M, Moulin P, Cousin P, et al. Interrelations between sex hormone-binding globulin (SHBG), plasma lipoproteins and cardiovascular risk. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 53(1): 567-72.
 20. Haffner SM, Valdez RA, Morales PA, Hazuda HP, Stern MP. Decreased sex hormone-binding globulin predicts noninsulin-dependent diabetes mellitus in women but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77(1): 56-60.
 21. Haffner SM, Katz MS, Dunn JF. Increased upper body and overall adiposity is associated with decreased sex hormone binding globulin in postmenopausal women. *Int J Obes* 1991; 15(7): 471-8.
 22. De Pergola G, Triggiani V, Giorgino F, et al. The free testosterone to dehydroepiandrosterone sulphate molar ratio as a marker of visceral fat accumulation in premenopausal obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1994; 18(10): 659-664.
 23. Kissebah AH, Freedman DS, Peiris A. Health risks of obesity. *Med Clin North Am* 1989; 73(1): 111-138.
 24. Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 1990; 10(4): 497-511.
 25. Key TJ, Allen NE, Verkasalo PK, Banks E. Energy balance and cancer: the role of sex hormones. *Proc Nutr Soc* 2001; 60(1): 81-9.
 26. Turcato E, Zamboni M, Pergola G, et al. Interrelationships between weight loss, body fat distribution and sex hormones in pre- and postmenopausal obese women. *J Intern Med* 1997; 241(5): 363-372.
 27. Shifren JL, Schiff I. The aging ovary. *J Women Health Gen Based Med* 2000; 9(Suppl 1): S3-7.
 28. Pasquali R, Vicennati V, Bertazzo D, et al. Determinants of sex hormone-binding globulin blood concentrations in premenopausal and postmenopausal women with different estrogen status. *Metabolism* 1997; 46(1): 5-9.
 29. Bernasconi D, Del Monte P, Meozzi M, et al. The impact of obesity on hormonal parameters in hirsute and nonhirsute women. *Metabolism* 1996; 45(1): 72-5.
 30. Wiegatz I, Jung-Hoffmann C, Kuhl H. Effect of two oral contraceptives containing ethinylestradiol and gestodene or norgestimate upon androgen parameters and serum binding proteins. *Contraception* 1995; 51(6): 341-346.
 31. Greco T, Graham CA, Bancroft J, Tanner A, Doll HA. The effects of oral contraceptives on androgen levels and their relevance to premenstrual mood and sexual interest: a comparison of two triphasic formulations containing norgestimate and either 35 or 25 microg of ethinyl estradiol. *Contraception* 2007; 76(1): 8-17.
 32. Lindstedt G, Lundberg P, Hammond GL, Vihko R. Sex hormone-binding globulin-still many questions. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 45(1): 1-6.
 33. Murialdo G, Galimberti CA, Fonzi S, et al. Sex hormones, gonadotropins and prolactin in male epileptic subjects in remission: role of the epileptic syndrome and of antiepileptic drugs. *Neuropsychobiology* 1994; 30(1): 29-36.
 34. Brenat G, Schnitman M, Gurfinkel M, et al. Variations of sex hormone-binding globulin in thyroid dysfunction. *Thyroid* 1999; 9(3): 273-277.
 35. Hampl R, Kancheva R, Hill M, Bicková, Vondra K. Interpretation of sex hormone-binding globulin levels in thyroid disorders. *Thyroid* 2003; 13(8): 755-760.
 36. Ducluzeau PH, Cousin P, Malvoisin E, et al. Glucose-to-insulin ratio rather than sex hormone-binding globulin and adiponectin levels is the best predictor of insulin resistance in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(8): 3626-3631.
 37. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17-alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996; 335(9): 617-623.
 38. Dunaif A. Insulin Resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18(6): 774-800.
 39. Haning RV Jr, Hackett RJ, Flood CA, et al. Testosterone, a follicular regulator: key to anovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77(3): 710-715.
 40. Wheeler MJ. The determination of bio-available testosterone. *Ann Clin Biochem* 1995; 32(4): 345-357.
 41. Davis SR. Androgen treatment in women. *Med J Aust* 1999; 170(11): 545-9.
 42. Sowers MF, Beebe JL, McConnell D, et al. Testosterone concentrations in women aged 25-50 years: associations with lifestyle, body composition, and ovarian status. *Am J Epidemiol* 2001; 153(3): 256-264.