

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی

سال ۲۵، شماره ۱، صفحات ۱۷ - ۲۳ (بهار ۱۳۸۰)

## اثر استروژن بر سطح سرمی انسولین، گلوکز، نسبت‌های کلسترول به HDL و LDL به HDL

### در دو رژیم عادی و سرشار از کلسترول در خرگوش نر

دکتر مهدی نعمت بخش\* سید حسین ثمریان\* نیتون سلطانی\*\* دکتر نضال صراف زادگان\*

دکتر محمدرضا شریفی\* مهین غروی\* دکتر مسعود امینی\* نوشین محمدی فرد\* حسن علی‌خاصی\*

\* دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

\*\* دانشکده پزشکی بندرعباس

#### خلاصه:

مقدمه: تغییرات سطح انسولین و گلوکز و چربیهای خون نسبت به وجود یا عدم وجود استروژن در خانمها خصوصاً پس از دوره منوپوز مورد بحث است. با توجه به وجود گیرنده‌های استروژنی در هر دو جنس و استفاده از استروژن در موارد بسیار خاص در جنس نر نقش استروژن بر شاخص نسبت‌های کلسترول (CHO) به (High Density Lipoproteines) HDL و (Low Density Lipoproteines) LDL و سطح سرمی انسولین و گلوکز در دو رژیم غذایی سرشار از کلسترول و عادی مورد بررسی قرار گرفت.

روشها و مواد: ۴۱ خرگوش نر در چهار گروه بمدت ۵ هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه‌های ۱ و ۲ رژیم سرشار از کلسترول دریافت کردند با این تفاوت که گروه ۱ بطور هفتگی استروژن می‌گرفت. در گروه‌های ۳ و ۴ رژیم غذایی طبیعی بود به استثنای اینکه گروه سوم همانند گروه اول استروژن دریافت می‌کرد. قبل از شروع آزمایش و پس از ۵ هفته آزمایش کلسترول، HDL، LDL، گلوکز و انسولین اندازه‌گیری شد.

نتایج: سطح سرمی گلوکز در هیچ‌یک از گروه‌ها قبل و بعد از ۵ هفته از آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت در صورتیکه سطح انسولین گسروه ۱ در پایان آزمایش بطور معنی‌داری افزایش (۰/۳۱ ± ۰/۷۶) در مقابل (۰/۱۱/۱۳ ± ۰/۷۰، P < ۰/۰۵) و در گروه ۳ بطور معنی‌داری کاهش (۰/۷۶ ± ۰/۴۷) در مقابل (۰/۴۳ ± ۰/۳۸، P < ۰/۰۵) و علاوه بر آن تفاوت سطح سرمی انسولین گروه ۱ و ۳ در پایان آزمایش متفاوت بود.

(۰/۱۱/۱۳ ± ۰/۷۰ در مقابل ۰/۳۸ ± ۰/۴۳، P < ۰/۰۵)، مقایسه نسبت‌های LDL/HDL و CHO/HDL در پایان آزمایش نسبت به قبل از آزمایش صرفاً در گروه ۳ و ۴ متفاوت بود (۰/۳۹ ± ۰/۱۱ در مقابل ۰/۴۴ ± ۰/۳۵ و ۰/۳۶ ± ۰/۱۳ در مقابل ۰/۱۱/۱۳ ± ۰/۱۳، P < ۰/۰۵) و ترتیب برای LDL/HDL و CHO/HDL در گروه ۳ و ۴ در مقابل ۰/۱۲ ± ۰/۸۲ در مقابل ۰/۳۶ ± ۰/۱۳ و ۰/۳۳ ± ۰/۹۶ در مقابل ۰/۱۱/۱۳ ± ۰/۲۱، P < ۰/۰۵) ترتیب برای پارامترهای فوق در گروه ۴، P < ۰/۰۵.

بحث: بنظر نمی‌رسد که استروژن نقشی در کاهش LDL و افزایش HDL، همانگونه که در زنان دریافت کننده استروژن پس از دوره منوپوز مشاهده می‌شود، در جنس نر داشته باشد، اما شاید استروژن در جنس نر و در مجاور رژیم پر کلسترول موجب افزایش مقاومت رسپتور به انسولین شود در حالیکه در رژیم عادی، استروژن سبب افزایش حساسیت گیرنده به انسولین می‌گردد.

واژگان کلیدی: استروژن، انسولین، گلوکز، کلسترول، HDL، LDL

## مقدمه:

با وجود آنکه گزارشاتی از استفاده استروژن پس از منوپوز برای کاهش امراض قلبی در زنان وجود دارد (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶) که می‌تواند از طریق افزایش جریان عروق کرونر و کاهش مقاومت عروقی (۷) در ایسن امر دخالت کند، اما اثرات این هورمون در تغییرات غلظت گلوکز و انسولین در استفاده کنندگان مورد بحث است. (۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲) در زنان پس از منوپوز سطح گلوکز با سن افزایش می‌یابد اما برای انسولین چنین افزایشی مورد نظر نیست. (۸) در زنانی که بعد از دوره منوپوز از استروژن استفاده می‌کنند فعالیت فیزیکی انسولین رابطه معکوس با سطح انسولین پلاسما دارد (۱۳) و همچنین در چنین افرادی فعالیت انسولین بر متابولیسم چربیها زیاد گشته، در حالیکه در متابولیسم گلوکز نقشی نداشته است. (۹) از طرف دیگر تغییرات مفیدی ناشی از اثر استروژن بر سطح لیپیدها، لیپوپروتئینها، گلوکز و انسولین مدنظر بعضی محققین بوده است. (۱۴) بطور کلی سطح انسولین در زنانیکه از استروژن استفاده می‌کردند نه تنها از گروه مشابهشان که استروژن استفاده نمی‌کردند کمتر بود، بلکه از سطح انسولین مردان نیز کمتر بوده است. (۱۰) در مردان ارتباط بین سطح پایین تستوسترون و هیپوانسولینمی گزارش شده است. (۱۵) هر چند گیرنده‌های استروژنی هم در مردان و هم در زنان وجود دارد (۱۶، ۱۷) اما ممکن است نسبت به محل گیرنده پاسخ متفاوتی نسبت به دو جنس مشاهده شود. (۱۸) حال با توجه به اثرات گزارش شده استروژن در جنس ماده خصوصاً اثرات آن بر سطح چربیهای خون (۱۹، ۲۰، ۲۱) و از طرفی وجود گیرنده‌های استروژن در هر دو جنس و نهایتاً استفاده از استروژن در موارد بسیار خاص در جنس نر این مطالعه با هدف عمده تعیین نقش استروژن بر سطح

سرمی انسولین، گلوکز و همچنین بر شاخص نسبتهای  $CHO/HDL$  و  $LDL/HDL$  در دو رژیم متفاوت سرشار از کلسترول و عادی در حیوانات نر به منظور پیش‌بینی چگونگی حساس بودن گیرنده‌های انسولین در حضور رژیم پر چربی و عادی مورد صورت گرفت.

## روشها و مواد:

۴۱ خرگوش نر سفید از نژاد (Douch Polish) با وزن ۱-۲ کیلوگرم از انستیتوپاستور ایران تهیه گردید. پس از چهار هفته نگهداری حیوانات در آزمایشگاه به منظور تطابق یافتن با محیط از تمام حیوانات نمونه خونی ناشتا از قلب حیوان و در حالت هوشیاری جهت اندازه‌گیری  $HDL$ ،  $LDL$ ، کلسترول، انسولین و گلوکز گرفته شد. سپس حیوانات بطور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. غذای سرشار از کلسترول بوسیله حل یک گرم پودر کلسترول خالص (ساخت کارخانه Merk) در ۴ سی‌سی روغن زیتون در حال حرارت و اضافه نمودن آن به یک کیلوگرم غذای معمولی حیوان (غذای معمولی خرگوش ساخت کارخانه دام پارس تهران) تهیه گردید. جهت جلوگیری از اثر روغن زیتون به هریک کیلوگرم رژیم عادی ۴ سی‌سی روغن زیتون افزوده شد. حیوانات به شرح زیر مورد آزمایش قرار گرفتند:

**گروه ۱** ( $n = 10$ ): رژیم سرشار از کلسترول همراه با تزریق عضلانی هفتگی ۳۰۰ تا ۳۵۰ میکرولیتر استرادیول والرات (کارخانه داروسازی ابوریحان).

**گروه ۲** ( $n = 11$ ): رژیم سرشار از کلسترول بدون دریافت استرادیول والرات

**گروه ۳** ( $n = 10$ ): رژیم عادی همراه با تزریق عضلانی استرادیول والرات مطابق گروه ۱

**جدول ۱- مقایسه میانگین وزن میوه‌نات در گروه‌های چهارگانه در داخل و بین گروه‌ها، قبل و پایان آزمایش\***

گروه	قبل از آزمایش	پس از شروع آزمایش
۱	۱/۲۸ ± ۰/۰۵	۱/۸۸ ± ۰/۰۶**
۲	۱/۳۸ ± ۰/۰۲	۱/۸۵ ± ۰/۰۵**
۳	۱/۳۰ ± ۰/۰۳	۱/۹۳ ± ۰/۰۶**
۴	۱/۳۵ ± ۰/۰۶	۱/۸۹ ± ۰/۰۶**

\* اطلاعات بصورت میانگین ± خطای معیار (برحسب کیلوگرم) ارائه شده است.

\*\* با قبل از آزمایش تفاوت معنی‌دار است (P < ۰/۰۵)

**جدول ۲- مقایسه میانگین نسبت‌های کلسترول به HDL و LDL/HDL در گروه‌های چهارگانه در داخل و بین گروه‌ها قبل و پایان آزمایش\***

گروه	پارامتر	قبل از آزمایش	پایان آزمایش
۱	LDL/HDL	۲/۱۵۹ ± ۰/۲۸	۲/۶۷ ± ۰/۲۰
	CHO/HDL	۳/۸۹ ± ۰/۳۴	۳/۷۸ ± ۰/۲۰
۲	LDL/HDL	۲/۴۴ ± ۰/۳۳	۲/۳۵ ± ۰/۴۰
	CHO/HDL	۴/۴۴ ± ۰/۴۹	۳/۵۱ ± ۰/۴۰
۳	LDL/HDL	۳/۰۱ ± ۰/۳۹	۰/۴۴ ± ۰/۱۰*
	CHO/HDL	۵/۰۲ ± ۰/۴۵	۱/۸۳ ± ۰/۱۳*
۴	LDL/HDL	۳/۱۲ ± ۰/۸۲	۰/۳۶ ± ۰/۱۳*
	CHO/HDL	۵/۰۳ ± ۰/۹۶	۱/۹۷ ± ۰/۲۱*

\* اطلاعات بصورت میانگین ± خطای معیار ارائه شده است.

\*\* با قبل از آزمایش تفاوت معنی‌دار است (P < ۰/۰۵)

\* با گروه‌های ۱ و ۲ در پایان آزمایش تفاوت معنی‌دار است (P < ۰/۰۵)

لازم به ذکر است که با توجه به رژیم دریافتی، عدم معنی‌دار بودن نسبت‌ها در دو گروه اول به منزله عدم تغییرات هریک از فاکتورها بطور جداگانه نیست. نسبت‌های فوق‌الذکر قبل از آزمایش در بین گروه‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۲) اما در پایان آزمایش این نسبت‌ها در گروه‌های ۱ و ۲ هر کدام جداگانه با دو گروه دیگر متفاوت بودند (P < ۰/۰۵) غلظت گلوکز پلاسما نه تنها در قبل و پس از ۵ هفته آزمایش تغییرات معنی‌دار نداشت (جدول ۳)

گروه ۴ (n = ۱۰): رژیم عادی بدون دریافت استرادیول والرات

پس از ۵ هفته در حالت حداقل ۱۴ ساعت ناشتا بودن، فاکتورهای پیشگفت در نمونه خونی اندازه‌گیری شد. کلسترول، HDL و تری‌گلیسرید توسط Elan Analyzer، با استفاده از روش آنزیماتیک و کیت تهیه شده از شرکت پارس آزمون تهران، LDL از طریق فرمول فریدوالد: (LDL = CHO - HDL - TG / ۵)، گلوکز با استفاده از روش اروتوتولونیدین و انسولین با استفاده از گاما کانتر و کیت تهیه شده از Diagnostic System Laboratories Inc. (تگزاس، آمریکا) به روش رادیو ایمنواسی (RIA) اندازه‌گیری شد.

**آنالیز آماری:**

جهت مقایسه پارامترها قبل و پس از ۵ هفته آزمایش، از آزمون مقایسه زوجها و جهت مقایسه بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه با استفاده از نرم افزار SPSS استفاده شد. مقدار P < ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

**نتیجه:**

اطلاعات مربوط به تغییر وزن حیوانات در حین آزمایش، LDL/HDL، CHO/HDL، گلوکز (G) و انسولین (I) بترتیب در جداول ۱ تا ۳ ارائه شده است. هرچند وزن حیوانات در تمام گروه‌ها در پایان آزمایش نسبت به قبل افزایش معنی‌داری داشت (P < ۰/۰۵) اما در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری در وزن مشاهده نشد (جدول ۱).

در گروه‌های دریافت کننده رژیم پرچربی (گروه ۱ و ۲) نسبت‌های LDL/HDL و CHO/HDL در قبل و بعد آزمایش متفاوت نبود. (جدول ۲) در حالیکه در گروه دیگر این تفاوت معنی‌دار بود (P < ۰/۰۵).

در دو گروه آخر در حیوانات دریافت کننده و دریافت نکننده استروژن یکسان بوده است. کاهش این نسبتها در گروههای ۳ و ۴ احتمالاً بدلیل اضافه نمودن روغن زیتون به رژیم آنهاست و بدینصورت در گروههای ۱ و ۲ سطح بالای کلسترول رژیم غذایی تا اندازه زیادی توانسته است بر اثر روغن زیتون غلبه پیدا کند. در زنان پس از منوپوز که استروژن دریافت کنند، افزایش HDL و کاهش LDL گزارش شده است (۲۱،۲۰،۱۹) و به عبارت دیگر در دریافت کننده استروژن انتظار داریم نسبت LDL/HDL کاهش یابد که این امر پارامتر خوبی جهت ریسک فاکتورهای امراض قلبی عروقی می باشد. هرچند در این مطالعه کاهش این پارامتر را در حضور رژیم های سرشار از کلسترول و عادی در جنس نر نمی توان به استروژن ربط داد، اما در جنس ماده گزارشات متفاوتی از تغییر و یا عدم تغییر چربیها و لیپوپروتئینها موجود است. (۲۱،۲۰)

غلظت انسولین در گروه ۱ که دریافت کننده رژیم سرشار از کلسترول همراه با استروژن بودند، افزایش معنی داری در طول آزمایش داشت. (جدول ۳) این نتایج در گروه ۳ که صرفاً رژیم غذایی تغییر کرده بود حاکی از کاهش انسولین بود، در حالیکه در گلوکز گروهها هیچگونه تغییراتی مشاهده نشد. گزارش شده است که در زنان با حساسیت بیشتر به انسولین، HDL بیشتر است. (۲۳) کاهش انسولین در گروه ۳ شباهتی به کاهش انسولین بوسیله استروژن در زنان پس از منوپوز که از استروژن استفاده می کردند، دارد. (۱۰) از طرف دیگر سطح گلوکز در زنان چساق و طبیعی متفاوت گزارش نگردیده است، در حالیکه سطح انسولین در زنان چساق بیشتر است. (۲۴) افزایش انسولین در گروه ۱ را نمی توان به افزایش وزن حیوانات نسبت داد چرا که در مقایسه وزن حیوانات در گروههای چهارگانه در پایان

بلکه در بین گروهها نیز متفاوت نبود، اما انسولین گروه ۱ که در یافت کننده رژیم پرچربی همراه با استروژن بود افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ) و در آنالیز آماری سطح انسولین گروه ۱ با گروه ۳ تفاوت معنی دار داشت ( $P < 0/05$ ) در دو گروه ۲ و ۴ در سطح انسولین تغییرات معنی داری مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین غلظت گلوکز (G) (mg/dl) و انسولین (I)  $\mu\text{IU/ml}$  در گروههای چهارگانه، قبل و پایان آزمایش گلوکز

گروه	پارامتر	قبل از آزمایش	پایان آزمایش
۱	G	۱۳۱±۴	۱۲۵±۴
	I	۴/۷۶±۰/۳۱	۱۱/۱۳±۱/۷۰*
۲	G	۱۳۴±۶	۱۲۴±۴
	I	۵/۳۹±۰/۲۶	۷/۶۸±۱/۸۸
۳	G	۱۳۲±۵	۱۲۳±۴
	I	۵/۴۷±۰/۷۶	۴/۰۳±۰/۳۸**
۴	G	۱۴۸±۶	۱۳۱±۵
	I	۵/۰۶±۰/۶۲	۸/۵۶±۱/۹۸

\* با قبل از آزمایش تفاوت معنی دار است ( $P < 0/05$ )

\*\* با گروه ۱ در پایان آزمایش تفاوت معنی دار است ( $P < 0/05$ )

#### بحث:

اثر استروژن بر سطح سرمی گلوکز، انسولین، LDL/HDL و CHO\HDL، در دو رژیم متفاوت غذایی و در جنس نر از اهداف این تحقیق بود. در نسبتهای فوق الذکر که از شاخص های ریسک فاکتورهای امراض قلبی - عروقی هستند در طی مدت آزمایش در گروه ۱ و ۲ تغییرات معنی داری مشاهده نشد هرچند پارامترهای تشکیل دهنده این نسبتها افزایش داشتند. در مقایسه دو گروه ۱ و ۲ با یکدیگر و دو گروه آخر به نظر می رسد که استروژن دخالتی در تغییرات این نسبتها نداشته باشد زیرا ثابت ماندن آنها در دو گروه اول و کاهش آنها

است که احتمالاً استروژن در جنس نر و در مجاور رژیم پر کلسترول موجب افزایش مقاومت رسپتور به انسولین شده است در حالیکه در گروه ۳ افزایش حساسیت گیرنده به انسولین مطرح می‌شود. (۲۶) البته همانطور که بنظر میرسد توضیح کاملی برای بسیاری از تغییرات گلیسمی و انسولین در زنان پس از منوپوز وجود ندارد. مسلماً این تغییرات درجنس نر به هنگام استفاده از استروژن درمانی بسیار پیچیده‌تر خواهد بود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از همکاری آقایان دکتر بهزاد اسفندیاری، حسن صادقی، اصغر صیادی، منصور کریمی و خانمها روشک رضوانی و نسرین جمعی اعلام می‌دارند.

آزمایش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. (جدول ۱) همچنین کاهش سطح انسولین در زنان پس از منوپوز نسبت به قبل از منوپوز (۱۱) گزارش دیگری است که تا اندازه‌ای با نتیجه دیگران (۱۰) متفاوت است. در آزمایشات تجربی که تخمدانهای میمونهای ماده برداشته و استروژن دریافت نموده‌اند کاهش سطح انسولین وجود دارد. (۲۵) پس از منوپوز در زنان مبتلا به دیابت غیر وابسته به انسولین که تحت درمان استروژن بودند افزایش حساسیت به انسولین در کبد مشاهده شده است. (۲۶) لذا به نظر می‌رسد در این تحقیق که حیوانات دو رژیم متفاوت داشته‌اند، فعالیت انسولین نیز متفاوت باشد. در مورد گروه ۱ که رژیم سرشار از کلسترول و استروژن دریافت می‌کردند، افزایش انسولین علی‌رغم عدم تغییرات گلوکز اینگونه قابل تفسیر

### References:

1. Gruchow HW, Anderson AJ, Barboriak JJ, et al. Postmenopausal use of estrogen and occlusion of coronary arteries. *Am Heart J.* 1988;115(5):954-963.
2. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, et al. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 1987;316(18):1105 - 110.
3. Sullivan JM, Zwaag RV, Lemp GF, et al. postmenopausal estrogen use and coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med.* 1988;108:358-363.
4. Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA.* 1991;265(14): 1861-1867.
5. Stanofor MJ, Colditz GA, Willett WC, et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease, ten year follow up from the nurses health study. *N Engl J Med.* 1991;325(11):756-762.
6. Rosenberg L, Palmer JR, Shapiro S. A case - control study of myocardial infarction in relation to use of estrogen supplements. *Am J Epidemiol.* 1993;137(1):54-61.
7. Reis SE, Gloth ST, Blumenthal RS, et al. Ethinyl estradiol acutely attenuates abnormal coronary vasomotor responses to acetylcholine in postmenopausal women. *Circulation.* 1994;89 (1):52-56.

8. Barrett-Connor E, Schrott HG, Greendale G, et al. Factors associated with glucose and insulin levels in healthy postmenopausal women. *Diabetes Care*, 1996; 19(4): 333-340.
9. O'Sullivan AJ, Ho, KK. A comparison of the effects of oral and transdermal estrogen replacement on insulin sensitivity in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995; 80(6): 1783-1788.
10. Ferrare A, Barrett-Connor E, Wingard DL, et al. Sex difference in insulin levels in older adults and the effect of body size, estrogen replacement therapy, and glucose tolerance status; the Rancho Bernardo study. *Diabetes Care*, 1995; 18(2): 220-225.
11. Pasquali R, Vicennati V, Bertazzo D, et al. Determinants of sex hormone-binding Tortelli O, Labate Am: Determinants of sex hormone-binding globulin blood concentration in premenopausal and post menopausal women with different estrogen status. *Metabolism*, 1997; 46(1): 5-9.
12. Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E, Wingard DL. Hysterectomy, oophorectomy and heart diseases risk factors in older women. *Am J Public Health* 1997; 87 (4) : 676-80.
13. Greendale GA, Bodin-Dunn L, Ingles S, et al. Leisure, home, and occupational physical activity and cardiovascular risk factors in postmenopausal women; the postmenopausal estrogen/progestins intervention (PEPI) study. *Arch Intern Med*, 1996; 156(4): 418-424.
14. Stevenson JC. The metabolic and cardiovascular consequences of HRT. *Br J Clin Pract*, 1995; 49 (2) : 87-90.
15. Tcgerbif A, Despres JP, Dupont A et al. Relation of steroid hormones to glucose tolerance and plasma insulin levels in men; importance of visceral adipose tissue. *Diabetes Care*, 1995; 18(3): 292-299.
16. Espinosa E, Oemar BS, Luscher TF. 17 beta Estradiol and smooth muscle cell proliferation in aortic cells of male and female rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996; 2221 (1): 8-14.
17. Frey AD, Curtis SW, Korach KS, et al. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by estrogen in depolarized rat and mouse aorta; role of nuclear estrogen receptor and  $Ca^{2+}$  uptake. *Circ Res*, 1997; 81 (2): 242-248.
18. Collins P, Rosano GMC, Sarrel Pm et al. 17- estradiol attenuates acetylcholine – induced coronary arterial constriction in women but not men with coronary heart disease. *Circulation*, 1995; 92 (1) : 24-30.
19. Derby CA, Hume AL, Barbour Mmet al. Correlates of postmenopausal estrogen use and trends through the 1980s in two southeastern New England communities. *Am J Epidemiol*, 1993; 137 (10) : 1125-1135.

20. Knopp RH . *The effect of postmenopausal estrogen therapy on the incidence of arteriosclerotic vascular disease. Obstet Gynecol, 72 (5) : 23S – 30S.*
21. Griffin B, Farish E, Walsh D, et al. *Response of plasma low density lipoprotein subfractions to estrogen replacement therapy following surgical menopause. Clin Endocrinol Oxf, 1993; 39 (4): 463-463.*
22. Godsland IF, Wynn V, Crook Det al. *Sex, plasma lipoproteins, and atherosclerosis: prevailing assumptions and outstanding questions : Am Heart J, 1987; 114 (6) : 1467- 1503.*
23. Sowers M, Gonzalez-Villalpando C, Stern MP, et al. *Relationship between physical activity, insulin level and lipids in non-diabetic low income residents of Mexico City: the Mexico City diabetes study. Arch Med Res, 1995; 26 (2) : 133-140.*
24. Medeiros LC, Liu YW, Park S, et al. *Insulin, but not estrogen, correlated with indexes of desaturase function in obese women . Horm Metab Res, 1995; 27(5) : 235-238.*
25. Wagber JD , Cefalu WT, Anthony MS, et al. *Dietary soy protein and estrogen replacement therapy improve cardiovascular risk factors and decrease aortic cholesteryl ester content in ovariectomized cynomolgus monkeys. Metabolism , 1997; 46 (6) : 698-705.*
26. Brussaard HE, Gevers-Leuven JA, Frolich M, et al. *Short-term oestrogen replacement therapy improves insulin resistance. Diabetologia, 1997; 40(7): 843-849.*